



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΣΕ
ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΑΝΤΡΕΣ»



ΚΑΛΑΘΑΡΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

ΦΡΑΓΚΟΠΟΥΛΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

ΜΕΛΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΥ ΣΜΑΡΑΓΔΗ

ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΛΙΑ ΜΑΙΡΗ

ΑΘΗΝΑ, 2011



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ ΣΕ
ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΑΝΤΡΕΣ**

ΚΑΛΑΘΑΡΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΑ

A.M. 4291027

ΑΘΗΝΑ, 2011

Αφιερωμένο

στην κόρη μου Αναστασία και

στο σύζυγο μου Στράτο

Είναι οι κινητήριες δυνάμεις μου...

Ευχαριστίες

Η συγκεκριμένη διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης μετά την ανάθεσή της από την επιβλέπουσα κ. *Ελισάβετ Φραγκοπούλου* την οποία και ευχαριστώ θερμά, τόσο για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου όσο και για την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων και κατά τη διαδικασία της συγγραφής αυτής της διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά την κ. *Μαριάννα Ξανθοπούλου* η όποια διεξήγαγε τις μετρήσεις για τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και επεξεργάστηκε τα δεδομένα. Η βοήθεια που μου προσέφερε όλο το διάστημα των αιμοληψιών αλλά και στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων ήταν τεράστια. Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στην κ. *Κλαίρη Αραμπατζή* και στην κ. *Αντιγόνη Τσιαφίτσα* για την άψογη συνεργασία που είχαμε σε όλη την περίοδο διεξαγωγής των πειραμάτων. Επίσης ευχαριστώ και *όλα τα άτομα που δούλευαν στο εργαστήριο* την ίδια περίοδο και βοήθησαν με τις εύστοχες υποδείξεις τους στην πειραματική διαδικασία.

Τις μεγαλύτερες ευχαριστίες μου θα ήθελα να απευθύνω στους *εθελοντές* γιατί χωρίς την επιμονή και υπομονή τους τίποτα από όλα αυτά δεν θα είχε επιτευχθεί.

Τέλος αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω τους *γονείς* μου που πίστεψαν σε μένα και με στήριξαν οικονομικά, και πάνω από όλα την *κόρη* μου και το *σύζυγο* μου για τη συνεχή ηθική συμπαράσταση τους αυτά τα δύο δύσκολα χρόνια του μεταπτυχιακού μου.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ACP	Ενεργοποιημένη πρωτεΐνη
ADP	Διφωσφορική αδενοσίνη
AP-1	Πρωτεΐνη ενεργοποίησης-1
APCS	Αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα
Apo-	Απολιποπρωτεΐνες
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη
CRP	C - αντιδρώσα πρωτεΐνη
EGR-	Μεταγραφικός παράγοντας (Early Growth Response Factor)
GM-CSF	Αυξητικός παράγων κοκκιοκυττάρων – μακροφάγων
HDL	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
HMGB1	High mobility group box protein-1
HSK	Ορμονοευαίσθητη λιπάση
HSPS	Heat-shock proteins
ICAM	Ενδοκυτταρικό μόριο προσκόλλησης
IL-	Ιντερλευκίνη
LDL	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
LP(a)	Λιποπρωτεΐνη (α)
MCP	Χημειοκίνες (Monocyte Chemoattractant Proteins)
NF-κB	Πυρηνικός παράγοντας -κB
OPG	Οστεοπρωτεγερίνη
PAF	Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων
PAI	Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου
PGD2	Προσταγλαδίνη D2
PGDF	Αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από τα αιμοπετάλια
PGI	Προστακυκλίνη
RANTES	Γονίδιο χημειοκίνη
SMC	Λεία Μυϊκά Κύτταρα
SRS-A	Χημειοκίνες (Slow Reactive Substance-A)
TFPI	Αναστολέας της πορείας του ιστικού παράγοντα
TG	Τριγλυκερίδια
TGF	Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β

TNF	Παράγοντας νέκρωσης όγκων
t-PA	Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου
TRLs	Λιποπρωτεΐνες υψηλές σε τριγλυκερίδια
TX-	Θρομβοξάνια
VCAM	Ενδοκυτταρικό μόριο προσκόλλησης
VLDL	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας
vWf	Παράγοντας von Willebrand
ΔΜΣ	Δείκτης μάζας σώματος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. Περίληψη.....	1
------------------	---

B. Abstract.....	3
------------------	---

Γ. Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας

Κεφάλαιο 1^ο: Φλεγμονή – Θρόμβωση

1.1 Εισαγωγή.....	5
1.2 Καρδιαγγειακά και Νεότεροι Παράγοντες Κίνδυνου.....	5
1.3 Αθηροσκλήρωση.....	6
1.4 Ορισμός Φλεγμονής.....	8
1.4.1 Διαδικασία Φλεγμονής.....	8
1.4.2 Κύτταρα - Φορείς της Φλεγμονής και Μεσολαβητές.....	10
1.4.3 Κυτταροκίνες και Μόρια Προσκόλλησης.....	12
1.4.4 Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF) και Φλεγμονή.....	13
1.5. Αιμόσταση.....	14
1.5.1 Αιμοστατικός Ρόλος των Αιμοπεταλίων	15
1.6 Δημιουργία Θρόμβου και Πήξη του Αίματος	16
1.6.1 Παράγοντες που Δρουν Ανασταλτικά στη Θρόμβωση	19
1.7 Λύση Θρόμβου (Ινωδολύση).....	20
1.7.1 Το Ινωδολυτικό Σύστημα.....	20
1.7.2 Ενεργοποιητές και Αναστολείς του Ινωδολυτικού Συστήματος.....	21

Κεφάλαιο 2^ο : Έρευνα και Κρασί

2.1 Εισαγωγή.....	24
2.2 Επιδημιολογικά Δεδομένα.....	24
2.3 Σύσταση Κρασιού.....	27
2.4 Πιθανοί Μηχανισμοί.....	30
2.5 Λευκό vs Κόκκινο Κρασί.....	31
2.6 Πειραματικές Μελέτες.....	32

Κεφάλαιο 3^ο : Κρασί και Μεταγευματική Κατάσταση

3.1 Μεταγευματικό Στάδιο.....	35
3.1.1 Μεταγευματική Λιπαιμία.....	36
3.1.2 Μεταβολισμός Γλυκόζης Μεταγευματικά.....	37
3.1.3 Μεταγευματική Κατάσταση και Φλεγμονή.....	38
3.1.4 Μεταγευματική Κατάσταση και Θρόμβωση.....	39
3.2 Μεταγευματικές Μελέτες με Κρασί Φλεγμονή και Θρόμβωση.....	40
Δ. Σκοπός.....	44

E. Μεθοδολογία

Κεφάλαιο 4^ο : Πειραματικές Μέθοδοι

4.1 Επιλογή Κρασιού.....	45
4.2. Επιλογή Εθελοντών.....	45
4.3 Πειραματικό Πρωτόκολλο.....	45
4.4 Συμπλήρωση Ερωτηματολογίων.....	47
4.5. Αιμοληψία.....	47
4.6 Βιοχημικές Αναλύσεις.....	48
4.6.1 Μέτρηση Γλυκόζης.....	48
4.6.2 Μέτρηση Τριγλυκεριδίων.....	49
4.6.3 Μέτρηση Ολικής Χοληστερόλης.....	50
4.6.4 Μέτρηση HDL Χοληστερόλης.....	51
4.6.5 Μέτρηση LDL χοληστερόλης.....	52
4.6.6 Μέτρηση Συσσώρευσης Αιμοπεταλίων Επαγόμενη από PAF.....	52

ΣΤ. Στατιστική Ανάλυση.....	54
------------------------------------	-----------

Κεφάλαιο 5^ο: Αποτελέσματα

5.1 Χαρακτηριστικά του Δείγματος.....	55
5.2 Βιοχημικά Χαρακτηριστικά Εθελοντών πριν την κάθε Παρέμβαση.....	55
5.3 Επίδραση Κατανάλωσης Κρασιού στη Γλυκόζη.....	56
5.4 Επίδραση Κατανάλωσης Κρασιού στα Τριγλυκερίδια.....	57
5.5 Επίδραση Κατανάλωσης Κρασιού στην Ολική Χοληστερόλη.....	58

5.6 Επίδραση Κατανάλωσης Κρασιού στην HDL Χοληστερόλη.....	59
5.7 Επίδραση Κατανάλωσης Κρασιού στην LDL Χοληστερόλη.....	60
5.8 Επίδραση Κατανάλωσης Κρασιού στη Σύσφρευση των Αιμοπεταλίων.....	60
Z. Συζήτηση.....	62
H. Βιβλιογραφία.....	68

A. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή- Σκοπός: Ιδιαίτερος λόγος έχει γίνει τα τελευταία χρόνια για την ευεργετική επίδραση του κρασιού σε παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα συμπεριλαμβανομένου της αθηροσκλήρωσης. Η φλεγμονή και η θρόμβωση αποδεδειγμένα εμπλέκονται στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης. Τα ερευνητικά δεδομένα για την μεταγευματική αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτική δράση που ενδέχεται να εμφανίζει η κατανάλωση του κρασιού είναι περιορισμένα. Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι να αξιολογήσει την μεταγευματική επίδραση δύο διαφορετικών κρασιών τα οποία έχουν επιλεγεί έναντι άλλων κυρίως λόγω της καλύτερης ικανότητας τους να αναστέλλουν *in vitro* την επαγόμενη από τον Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF) συσσώρευση αιμοπεταλίων.

Μεθοδολογία: 8 υγιείς άνδρες, φυσιολογικού βάρους, μη καπνιστές, ηλικίας 30 ± 3 ετών, συμμετείχαν με τυχαία σειρά σε 4 δοκιμασίες. Κάθε δοκιμασία περιλάμβανε την κατανάλωση πρωινού συγκεκριμένης σύστασης με: 4 ml/kg ΣΒ νερό, 4 ml/kg ΣΒ αιθανόλη (12.5%), 4 ml/kg ΣΒ λευκό κρασί (κύρια ποικιλία Ρομπόλα), 4 ml/kg ΣΒ κόκκινο κρασί (κύρια ποικιλία Cabernet Sauvignon). Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν πριν και αμέσως μετά τη λήψη του πρωινού με το όποιο ποτό καθώς και 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 και 360 λεπτά μετά. Στον ορό μετρήθηκαν η γλυκόζη, η ολική χοληστερόλη, η HDL χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια με εμπορικά διαθέσιμα κιτ. Επιπλέον μετρήθηκε η ικανότητα των αιμοπεταλίων σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) να συσσωρεύονται υπό την επίδραση του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως EC_{50} PAF δηλαδή η συγκέντρωση του PAF που απαιτείται για να προκαλέσει το 50% της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων.

Αποτελέσματα: Δεν υπήρξε κάποια στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των 4 παρεμβάσεων στις συγκεντρώσεις της γλυκόζης και των λιποειδών. Στη παρέμβαση με το λευκό κρασί όμως τα τριγλυκερίδια εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική αύξηση σε σχέση με το νερό στα 360 λεπτά ($p=0,03$) ενώ μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα 210 λεπτά ($p=0,04$), στα 300 λεπτά ($p=0,04$), και στα 360 λεπτά ($p=0,04$) σε σχέση με το νερό. Όσον αφορά τις διαφορές που παρατηρήθηκαν στην ικανότητα

των αιμοπεταλίων να συσσωρεύονται παρατηρήθηκε μια οριακή διαφοροποίηση μεταξύ των παρεμβάσεων ($p=0,07$). Στις επιμέρους συσχετίσεις παρατηρήθηκε ότι η παρέμβαση με το λευκό κρασί παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά με το νερό ($p=0,03$) και μάλιστα τις χρονικές στιγμές 30 ($p=0,02$), 90 ($p=0,02$) και 210 ($p=0,03$) λεπτά παρουσίασε μείωση στην ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων σε σχέση με το νερό.

Συμπεράσματα: Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η κατανάλωση κρασιού μπορεί να επηρεάσει την μεταγενεματική κατάσταση παράλληλα με τη λήψη του γεύματος και να μειώσει την ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Απαιτείται ωστόσο περαιτέρω έρευνα σε μεγαλύτερο δείγμα ατόμων.

B. ABSTRACT

Introduction: The latest years, the beneficial effect of wine have been mentioned a lot on the risk factors that causes cardiovascular diseases and on atherosclerosis. Inflammation and thrombosis demonstrably are involved in the pathogenesis of atherosclerosis. The research data about the postprandial anti-inflammatory and antithrombotic effect of wine consumption is limited. The purpose of this study is to assess the postprandial effect of two different wines that have been chosen over others mainly because of their potent capacity among others to inhibit platelet aggregation in vitro induced by Platelet Activating Factor (PAF).

Methology: 8 healthy men normal weight, non-smokers aged 30 ± 3 years participated in random order on 4 tests. In each trial the volunteers consumed a standardized breakfast along with: 4 ml water / kg body weight (BW), 4 ml ethanol (12.5%)/ kg BW, 4 ml white wine (main variety Robola)/ kg BW, 4 ml red wine (main variety Cabernet Sauvignon)/ kg BW. Blood samples were collected before and immediately after consumed the breakfast with any drink and 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 and 360 minutes later. Measurements of serum glucose, total cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides had been made with commercially available kits. Thus we measured the ability of plasma rich platelets (PRP) to accumulate under the influence of platelet-activating factor (PAF). The results were expressed as EC50 of the concentration of PAF that was required to cause 50% of platelet aggregation.

Results: There were no statistically significant difference between the 4 trials as for the concentrations of glucose and lipids. The intervention with the white wine in the triglycerides concentrations showed a significant increase compared with water at 360 minutes ($p = 0,03$). Also consumption of red wine had statistically significant differences in 210 minutes ($p = 0,04$), in 300 minutes ($p = 0,04$), and 360 minutes ($p = 0,04$) compared with water. Regarding the observed differences in the ability of platelets to aggregate, there was a marginal difference between the interventions ($p = 0,07$). However, the intervention with the white wine showed a significant difference compared to water ($p = 0,03$) and especially at 30 ($p=0,02$) 90 ($p = 0,02$) and 210 ($p = 0,03$) minutes the ability of platelet to aggregate was decreased compared with water.

Conclusions: These results indicate that wine consumption in parallel with meal may influence the postprandial state and reduce the ability of platelet aggregation. However, further research is needed on a larger sample of individuals.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : ΦΛΕΓΜΟΝΗ - ΘΡΟΜΒΩΣΗ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ^[1]

Η φλεγμονή και η θρόμβωση αποτελούν φυσιο- παθολογικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται σε πολλές βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Σε φυσιολογικές καταστάσεις και οι δύο διαδικασίες αποσκοπούν στη θεραπεία των λοιμώξεων και στον έλεγχο της αιμορραγίας αντίστοιχα. Σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όμως, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, τα καρδιαγγειακά νοσήματα συμπεριλαμβανομένου και της αθηροσκλήρωσης και πολλές άλλες, η φλεγμονή μπορεί να θεωρηθεί ως μια παθογενετική διαδικασία. Επιπλέον και η δημιουργία θρόμβων συμβάλει στην εξέλιξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Πληθώρα μελετών αναφέρουν τη φλεγμονή, τη θρόμβωση και το οξειδωτικό στρες ως την τριάδα της παθογενετικής διαδικασίας των καρδιαγγειακών νοσημάτων.

1.2 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΚΑΙ ΝΕΟΤΕΡΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την κύρια αιτία θνησιμότητας και νοσηρότητας στις δυτικές χώρες. Ο όρος καρδιαγγειακά εμπεριέχει ένα ευρύ φάσμα διαταραχών, οι οποίες προσβάλλουν την καρδιά και τα αιμοφόρα αγγεία και περιλαμβάνουν τη στεφανιαία νόσο, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, τη ρευματική καρδιοπάθεια, τη συγγενής καρδιοπάθεια, τα ανευρύσματα, την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση και πνευμονική εμβολή, την περιφερική αρτηριοπάθεια κ.α.^[2]

Τα καρδιαγγειακά είναι πολυπαραγοντικά και σύνθετης αιτιολογίας νοσήματα και ο μόνος τρόπος που μπορούν να αντιμετωπιστούν επιτυχώς είναι η λήψη υπ' όψιν όλων των παραγόντων κινδύνου αναπτύξεών των. Σίγουρα η δημιουργία και η εμπέδωση αθηρωματικής πλάκας αποτελεί το νούμερο ένα παράγοντα για ανάπτυξη καρδιαγγειακών. Οι παράγοντες κινδύνου διακρίνονται σε τροποποιήσιμους και σε μη τροποποιήσιμους.^[3]

Τροποποιήσιμοι Παράγοντες Κινδύνου:

- Αρτηριακή υπέρταση

- Υπερλιπιδαιμία (↑ ολική χοληστερόλη και LDL και ↓ HDL)
- Κάπνισμα
- Παχυσαρκία
- Μη υγιεινή διατροφή
- Σακχαρώδης διαβήτης
- Έλλειψη φυσικής δραστηριότητας
- Κατάχρηση αλκοόλ
- Φαρμακευτική αγωγή π.χ. αντισυλληπτικά
- Διαταραχές ψυχικής υγείας και στρες
- Χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο

Μη Τροποποιήσιμοι Παράγοντες Κινδύνου

- Ηλικία
- Οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου
- Φύλο
- Φυλή και εθνικότητα

Στη διάρκεια των τελευταίων ετών νεότεροι παράγοντες κινδύνου που συμβάλλουν στην ανάπτυξη και εξέλιξη των καρδιαγγειακών έχουν εντοπιστεί ή ανακαλυφθεί εκ νέου. ^[4]

Νεότεροι Παράγοντες Κινδύνου

- Υπέρταση αριστερής κοιλίας
- Ομοκυστεΐνη
- Λιποπρωτεΐνη (α)
- Δείκτες φλεγμονής (π.χ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη)
- Οξειδωτικό στρες
- Υπερτριγλυκεριδαιμία
- Υπερπηκτικότητα και μειωμένη δραστηριότητα του ινωδολυτικού μηχανισμού
- Λοιμώδεις παράγοντες

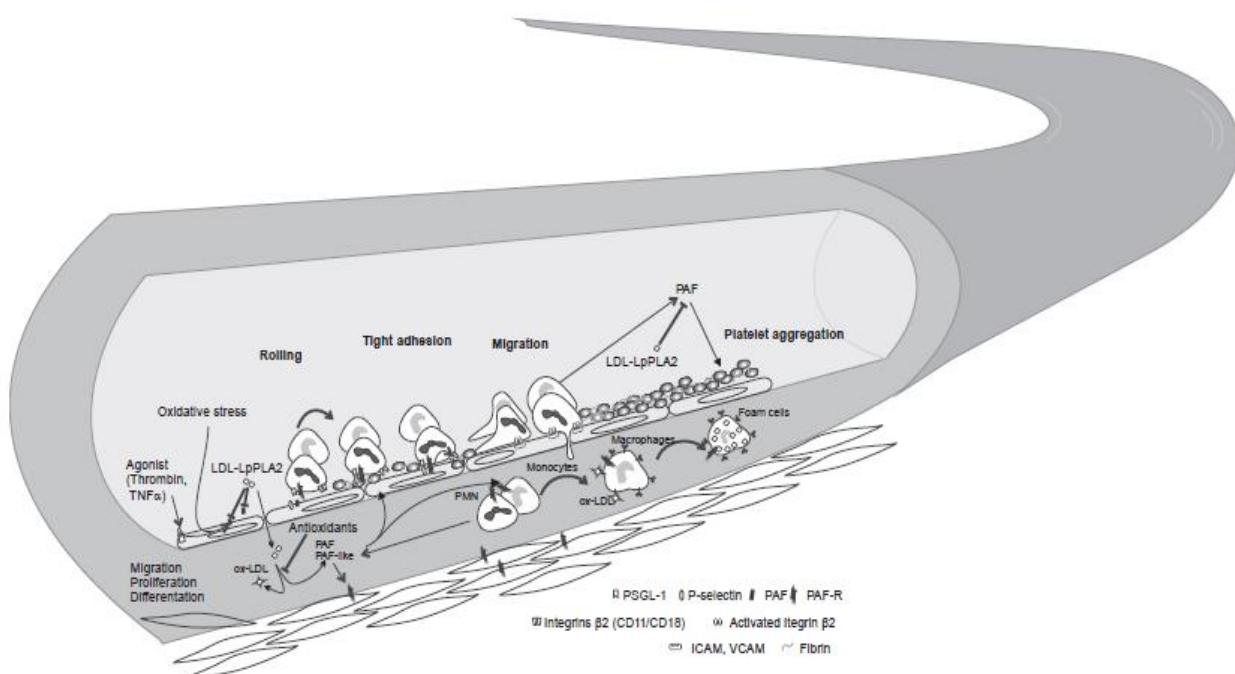
1.3 ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ ^[5]

Η αθηροσκλήρωση μπορεί να θεωρεί ως ένας ειδικός τύπος χρόνιας φλεγμονής, που σε συνδυασμό με την ελλιπή ρύθμιση της διαδικασίας της θρόμβωσης, είναι η κύρια αιτία της στεφανιαίας νόσου που μπορεί να οδηγήσει ακόμη και στο θάνατο. Ως αθηροσκλήρωση

χαρακτηρίζεται η εναπόθεση πλάκας ανομοιογενούς σύστασης στην επιφάνεια του αρτηριακού τοιχώματος. Η αθηροσκληρωτική πλάκα αποτελείται από ένα εξωτερικό ινώδες περίβλημα το οποίο συνίσταται από λεία μυϊκά κύτταρα, κολλαγόνο, λιποειδή και από ένα νεκρωτικό πυρήνα αποτελούμενο από κυτταρικά αποθέματα, χοληστερόλη και ασβέστιο.

Η αθηρογένεση αρχίζει από νεαρή ηλικία. Η χρόνια εναπόθεση των προαναφερθέντων συστατικών έχει ως αποτέλεσμα την αγγειακή στένωση η οποία, όταν συμβαίνει σε καρδιακές αρτηρίες, οδηγεί σε θάνατο του καρδιακού μυ και σε έμφραγμα του μυοκαρδίου, λόγω παρεμπόδισης της ροής του αίματος στον καρδιακό μυ από θρόμβους οι οποίοι αποφράζουν τις στεφανιαίες αρτηρίες.

Η διαδικασία της αθηρωματικής βλάβης θα μπορούσε να ταξινομηθεί στα ακόλουθα βασικά βήματα: α) δυσλειτουργία του ενδοθηλίου β) διείσδυση των σωματιδίων LDL καθώς και των ελεύθερων λευκοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο γ) οξείδωση της LDL δ) συσσώρευση μακροφάγων που προέρχονται από τα μονοκύτταρα τα οποία τελικά αποκτούν τη μορφή αφρωδών κυττάρων ε) μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων (SMC) και εξάπλωση τους στον υποενδοθηλιακό χώρο και στ) εγκατάσταση δομικής ενδοθηλιακής βλάβης που ακολουθείται από εναπόθεση αιμοπεταλίων και σχηματισμό θρόμβου. Στο σχήμα 1.6 φαίνονται τα στάδια της αθηρογένεσης.^[6]



Σχήμα 1.6: Τα στάδια της αθηρογένεσης.

1.4 ΟΡΙΣΜΟΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Από τα αρχαία χρόνια έγινε κατανοητό ότι ο οργανισμός του ανθρώπου μέσω μιας συγκεκριμένης διαδικασίας κάθε φορά, ανταποκρίνεται στον τραυματισμό σε μια προσπάθεια επούλωσης. Μάλιστα ο Celsus (30 π.Χ.- 38 μ.Χ.) αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη φλεγμονή και συγκεκριμένα στο οίδημα, τον πόνο, την αύξηση της θερμοκρασίας και στην τοπική ερυθρότητα που αποτελούν και τα 4 βασικά σημεία της. Πολύ αργότερα ο Hunter έδωσε και τον πρώτο ορισμό της φλεγμονής, αναφέροντας τη φλεγμονή σαν μια απάντηση του οργανισμού σε μια βλάβη - ασθένεια που σκοπό έχει την αποκατάσταση της κανονικής λειτουργίας του οργανισμού.^[7]

Με την εξέλιξη της επιστήμης η όλη διαδικασία της φλεγμονής μελετήθηκε και διευρύνθηκε. Συνεπώς ως φλεγμονή ορίζουμε ένα περίπλοκο σύνολο αλληλεπιδράσεων μεταξύ χημικών μηνυμάτων και κύτταρων που μπορούν να πυροδοτηθούν σε οποιοδήποτε ιστό σαν απάντηση σε κάθε είδους βλάβη (τραύμα, μόλυνση, ισχαιμία, τοξική ή αυτοάνοση αντίδραση).^[8] Ανεξαρτήτως της αιτίας όμως, η φλεγμονή είναι σχετικώς στερεότυπη αφού ο μηχανισμός πυροδότησης της περιλαμβάνει κυρίως τον κυτταρικό ή τον ιστικό τραυματισμό. Οι λειτουργίες της φλεγμονής είναι η καταστροφή ή η απενεργοποίηση των ξένων εισβολέων και η εγκατάσταση της επιδιόρθωσης της κυτταρικής βλάβης.^[9]

Εφόσον η φλεγμονή είναι μέρος της μη ειδικής άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού διαδραματίζει ουσιώδη ρόλο στην εξουδετέρωση πολλών παθογόνων οργανισμών. Κλινικά η φλεγμονή χαρακτηρίζεται και από αλλαγές μιας σειράς εργαστηριακών παραμέτρων, όπως: η αύξηση της ταχύτητας καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, η αύξηση της C- αντιδρώσας πρωτεΐνης, η αύξηση των πρωτεϊνών του συμπληρώματος, η αύξηση της α2-μακροσφαιρίνης και του ινωδογόνου, ενώ ταυτόχρονα μειώνεται και η συγκέντρωση άλλων πρωτεϊνών όπως της αλβουμίνης και της τρανσφερίνης, ή μετάλλων όπως του σιδήρου.^[10]

1.4.1 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Η φλεγμονή, όπως αναφέρθηκε, είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει την αλληλουχία των γεγονότων που εμφανίζονται σε απάντηση στη λοίμωξη ή στην αλλοίωση των ιστών. Μπορεί να διακριθεί βάση του χρόνου διάρκειας αλλά και των ιστοπαθολογικών αλλαγών σε:

- οξεία φλεγμονή, η οποία αποτελεί την πρώιμη φάση της φλεγμονής και χαρακτηρίζεται από γρήγορη έναρξη και μικρή διάρκεια (ημέρες) ενώ τα κύτταρα του αίματος που συνήθως εμπλέκονται είναι τα πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα, και σε

- χρόνια φλεγμονή, η οποία έχει μεγαλύτερη διάρκεια (μέχρι και χρόνια) και τα κύτταρα του αίματος που συνήθως εμπλέκονται είναι τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα.

Η οξεία φλεγμονώδης απάντηση συνοψίζεται σε 6 διακριτές φάσεις: ^[9]

1) Είσοδος των βακτηρίων στους ιστούς ή τραυματισμός του ιστού και αναγνώριση από τον οργανισμό της ύπαρξης λοίμωξης.

2) Αγγειοδιαστολή στη μικροκυκλοφορία στη φλεγμαίνουσα περιοχή που οδηγεί στην αύξηση της κυκλοφορίας του αίματος στην περιοχή.

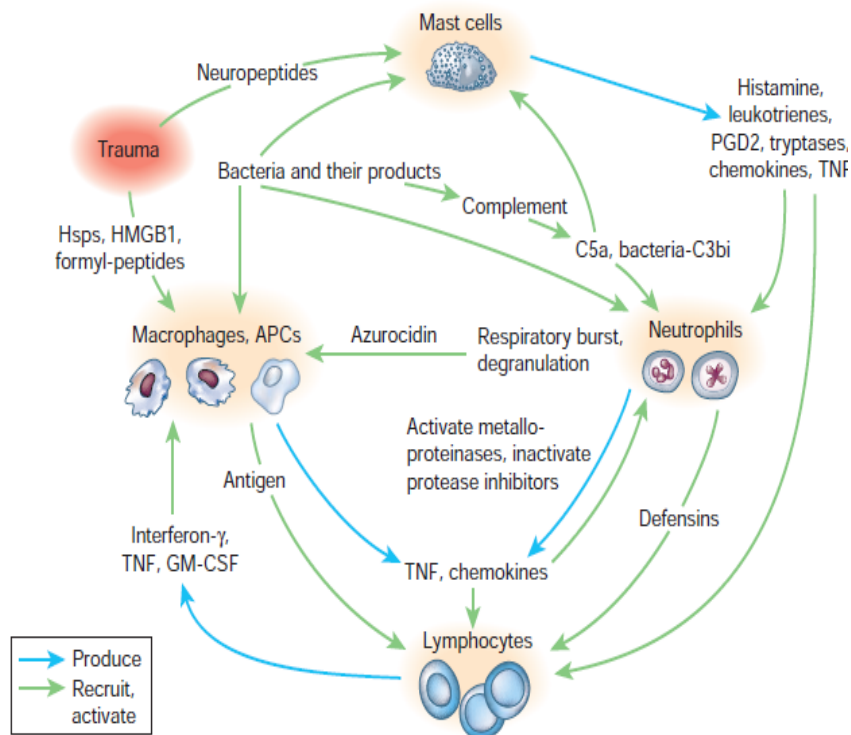
3) Αύξηση στη διαπερατότητα των πρωτεϊνών στα τριχοειδή και στα φλεβίδια της φλεγμαίνουσας περιοχής, διάχυση πρωτεϊνών και διήθηση υγρού στο μεσοκυττάριο χώρο.

4) Χημειοταξία: Έξοδος των λευκοκυττάρων από τα φλεβίδια προς το μεσοκυττάριο υγρό της φλεγμαίνουσας περιοχής.

5) Καταστροφή των βακτηρίων στον ιστό είτε μέσω φαγοκυττάρωσης είτε μέσω μηχανισμών που δεν απαιτούν προηγούμενη φαγοκυττάρωση.

6) Ιστική επιδιόρθωση και λύση της φλεγμονής.

Η παραγωγή σημάτων που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της φλεγμονής δίνεται παραστατικά και στο σχήμα 1.1.



Σχήμα 1.1: Ροή πληροφοριών στα πρώτα στάδια μετά από ήπιο τραύμα με λοίμωξη. Κάθε κύτταρο δεσμεύεται να προσλαμβάνει και να ενεργοποιεί τα άλλα μέσω πολλαπλών εισόδων. Δεν εμφανίζονται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ λευκοκυττάρων, ενδοθηλίου, αιμοπεταλίων και παραγόντων πήξης.^[8]

1.4.2 ΚΥΤΤΑΡΑ- ΦΟΡΕΙΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ

Με τον όρο φορείς τις φλεγμονώδους απόκρισης, αναφερόμαστε στα κύτταρα που συμμετέχουν στη διαδικασία της φλεγμονής καθώς και χυμικούς παράγοντες όπως οι κυτταροκίνες και τα λιποειδή που αποτελούν προϊόντα αυτών των κυττάρων ή πρωτεΐνες οξείας φάσης και του συμπληρώματος. Τα κύτταρα με ρόλο κλειδί στη διαδικασία της φλεγμονής είναι τα κύτταρα που λειτουργούν σαν φαγοκύτταρα, τα πιο σημαντικά των οποίων είναι τα λευκοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα από τα οποία προέρχονται τα μονοκύτταρα και τα μακροφαγομιμητικά. Επίσης τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια διαδραματίζουν έναν ιδιαίτερο ρόλο τόσο στη φλεγμονώδη απάντηση αλλά και στη μετέπειτα διαδικασία της αθηροσκλήρωσης όπως αναπτύχθηκε και παραπάνω. Οι φλεγμονώδεις μεσολαβητές παράγονται από τα βασεόφιλα που ευρίσκονται στο αίμα και τα μαστοκύτταρα που ανευρίσκονται στους ιστούς (connective tissue MCs, T-cell independent) και στους βλεννογόνους (mucosal MCs, T-cell dependent). Αυτά φέρουν στην επιφάνειά τους ανοσοσφαιρίνες IgE που αποτελούν υποδοχείς για τον ξένο βιολογικό παράγοντα. Η σύνδεση του βιολογικού παράγοντα με τους

υποδοχείς οδηγεί στην αποκοκκιοποίηση των κυττάρων και απελευθέρωση ηπαρίνης, ισταμίνης, σεροτονίνης, SRS-A πολύ σημαντικοί παράγοντες στην φλεγμονώδη αντίδραση.^[10]

Εξίσου σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία έχουν οι χημικοί μεσολαβητές οι οποίοι είναι δυο γενικότερων κατηγοριών 1) πεπτίδια (π.χ. κινίνες) που παράγονται στο σημείο της φλεγμονής μέσω ενζυμικών δράσεων σε πρωτεΐνες του πλάσματος και 2) ουσίες που εκκρίνονται στο εξωκυττάριο υγρό από κύτταρα που είτε υπάρχουν ήδη στη μολυσμένη περιοχή (π.χ. μαστοκύτταρα) ή έρχονται σε αυτήν την περιοχή κατά τη διάρκεια της φλεγμονής (π.χ. ουδετερόφιλα). Μερικοί σημαντικοί τοπικοί μεσολαβητές της φλεγμονής παρουσιάζονται στον πίνακα 1.1.^[9]

Πίνακας 1.1. Μερικοί σημαντικοί μεσολαβητές της φλεγμονής

Μεσολαβητής	Προέλευση
Κινίνες	Παράγονται μέσω ενζυμικής δράσης από τις πρωτεΐνες του πλάσματος
Συμπλήρωμα	Παράγονται μέσω ενζυμικής δράσης από τις πρωτεΐνες του πλάσματος
Παράγοντες Πήξης	Παράγονται μέσω ενζυμικής δράσης από τις πρωτεΐνες του πλάσματος
Ισταμίνη	Εκκρίνεται από τα μαστοκύτταρα
Εικοσανοειδή	Εκκρίνονται από πολλούς τύπους κυττάρων
Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF)	Εκκρίνεται από πολλούς τύπους κυττάρων
Κυτταροκίνες (TNF-a, IL-1β, IL-8, IL-6, IL-1ra κ.α.) Χημειοκινών (MCP-1, MIP, RANTES, κ.α)	Εκκρίνονται από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα λεμφοκύτταρα και αρκετούς τύπους κυττάρων που δεν ανήκουν στο ανοσοποιητικό σύστημα. Σε αυτά τα κύτταρα περιλαμβάνονται τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ινοβλάστες.
Λυσοσωμικά ένζυμα, οξείδιο του αζώτου και άλλες ουσίες που παράγονται από το οξυγόνο	Εκκρίνονται από μακροφάγα και ουδετερόφιλα

1.4.3 ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ ^[10]

Οι κυτταροκίνες είναι μικρομοριακές πρωτεΐνες που μεσολαβούν στην επικοινωνία των κυττάρων. Παράγονται από πολλά κύτταρα κυρίως ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα, μακροφάγα αλλά και από το ενδοθήλιο και κύτταρα συνδετικού ιστού. Συμμετέχουν σε φυσιολογικές βιολογικές λειτουργίες όπως η ανάπτυξη και η διαφοροποίηση αιμοποιητικών, λεμφικών και μεσεγχυματικών κυττάρων. Αν και η δράση τους έχει συνδεθεί περισσότερο με την ανοσολογική απάντηση, οι κυτταροκίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή. Οι κυτταροκίνες μπορούν να ταξινομηθούν με βάση της λειτουργικές τους ιδιότητες σε:

- Παράγοντες που διεγείρουν αποικίες όπως μακροφάγων κ.λ.π.
- Παράγοντες ανάπτυξης και διαφοροποίησης όπως ο PGDF, TGF κ.λ.π.
- Ανοσορυθμικές κυτταροκίνες όπως ιντερλευκίνες IL-2, 4, 5, 7 και 9-18, ιντερφερόνη-γ (IFN-γ).
- Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες: παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (TNF-α), IL-1, 6 και 8
- Αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και αναστολείς παραγόντων ανάπτυξης και διαφοροποίησης: αναστολέας υποδοχέα ιντερλευκίνης-1, IL-4, 10 και 13, οστεοπρωτεγερίνη (OPG)

Οι χημειοκίνες, που παίζουν ίσως τον πιο σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή, ανήκουν σε μια ομάδα που τα περισσότερα μέλη έχουν την ιδιότητα να δρουν ως χημειοτακτικές κυτταροκίνες και ενέχονται σε πολλές φλεγμονώδεις νόσους όπως άσθμα, οστεοαρθρίτιδα, φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, αθηρωσκλήρωση κ.α.

Το κύριο ερέθισμα για την παραγωγή κυτταροκινών αποτελούν οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες TNF-α και IL-1 που ασκούν σημαντικές δράσεις στη φλεγμονή αφού ενεργοποιούν τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα και μηχανισμούς ενδαγγειακής πήξης και επιδρούν στο ενδοθήλιο.

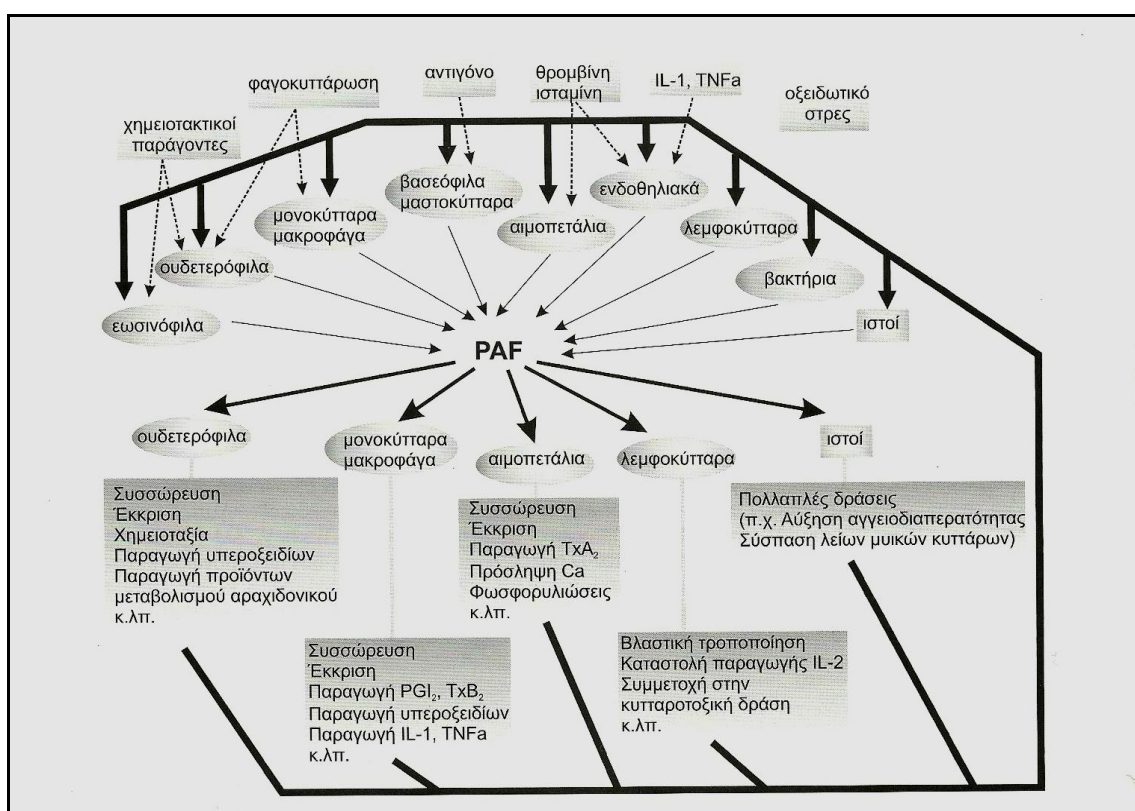
Το ενδοθήλιο παίζει και αυτό το δικό του ρόλο στη φλεγμονή μέσω της παραγωγής PAF, προσταγλαδινών και λευκοτριενίων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά και με την επαγωγή μορίων προσκόλλησης που ευνοούν την είσοδο των λευκοκυττάρων στους ιστούς. Οι πιο σημαντικές είναι οι σελεκτίνες (E και P) και τα ανοσοσφαιρινικής δομής μόρια ICAM-1 και VCAM-1. Οι σελεκτίνες είναι μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες που εκφράζονται μετά από ενεργοποίηση στο αγγειακό ενδοθήλιο και επάγουν το αργό κύλισμα των κυττάρων πάνω στο ενδοθήλιο. Οι υποδοχείς τους είναι σιαλοβλεννίνες της μεμβράνης των κυττάρων. Τα μόρια προσκόλλησης ICAM-1 και VCAM-1 είναι μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες που επάγονται στο

αγγειακό ενδοθήλιο και οδηγούν σε ισχυρή προσκόλληση των κυττάρων στο ενδοθήλιο για το πέρασμα στους ιστούς. Οι υποδοχείς τους είναι οι ιντεγκρίνες.

1.4.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PAF) ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

[11]

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet-Activating Factor, PAF) ή 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη θεωρείται πολύ σημαντικός μεσολαβητής της φλεγμονής. Παράγεται από διάφορα κύτταρα όπως είναι τα αιμοπετάλια, τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα αφρώδη κύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα μετά την ενεργοποίησή τους. Επίσης κύτταρα πολλών ιστών μπορούν να συνθέσουν PAF είτε σε φυσιολογικές καταστάσεις είτε μετά την ενεργοποίησή τους. Η εμπλοκή του PAF στη φλεγμονή προέρχεται από την ικανότητά του να διεγείρει τα φλεγμονώδη κύτταρα, να μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις κυττάρου-κυττάρου και στην ενδοκυτταρική σήμανση. Νεότερα δεδομένα υποδεικνύουν πως ο PAF φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο σε θρομβωτικές επιπλοκές, προκαλεί την απελευθέρωση ενεργών ριζών, συμβάλει στην οξείδωση της LDL και προκαλεί συσσώρευση αιμοπεταλίων. Ο κεντρικός ρόλος του PAF ως μεσολαβητή της φλεγμονής δικαιολογεί και το ευρύ φάσμα των βιολογικών του δράσεων όπως παρουσιάζεται και στο σχήμα 1.2. [12]



Σχήμα 1.2: Βιολογικές δράσεις του PAF

Επίσης η αυξημένη δράση του PAF στο αίμα μπορεί να προκαλέσει την έναρξη μιας γρήγορης φλεγμονώδους απάντησης των ενδοθηλιακών κυττάρων διαμέσου της αναγνώρισης του υποδοχέα του μορίου αυτού, προκαλώντας έτσι αύξηση στη διαπερατότητα του ενδοθηλίου. Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν και εκθέτουν PAF στην επιφάνεια τους προκαλώντας την περεταίρω ενεργοποίηση και προσκόλληση των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων. Το γεγονός αυτό αποτελεί ένα σημαντικό στάδιο στη δημιουργία αθηροσκλήρωσης όπως παρουσιάστηκε παραπάνω.

1.5. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ ^[13, 14]

Αιμόσταση είναι ο φυσιολογικός μηχανισμός άμυνας του οργανισμού, ο οποίος εμποδίζει την απώλεια αίματος από τραυματισμένα αιμοφόρα αγγεία, διασφαλίζοντας την ακεραιότητα και στεγανότητα του τοιχώματός τους καθώς και τη βατότητα του αυλού τους. Η συντονισμένη δράση της φλεγμονής και της αιμόστασης έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία θρόμβου, την επιδιόρθωση της βλάβης, τη λύση του θρόμβου με φαγοκυττάρωση των υπολειμμάτων και τελικά την ανάπλαση του ιστού. Η διαδικασία της αιμόστασης αρχίζει λίγα δευτερόλεπτα μετά την αγγειακή κάκωση και ολοκληρώνεται σε μικρό χρονικό διάστημα (λίγα λεπτά μέχρι και μια ώρα περίπου).

Η απρόσκοπτη ροή του αίματος στα αγγεία διασφαλίζεται από το φυσιολογικό και ανέπαφο ενδοθήλιο τους, το οποίο δρα με παράγοντες αντιθρομβωτικούς. Οι αντιθρομβωτικές ιδιότητες ενός αγγείου χάνονται μετά τον τραυματισμό του, επειδή τραυματίζεται το ενδοθήλιο, αλλά λόγω επαφής του αποκαλυπτόμενου υπενδοθηλίου με αιμοπετάλια, με παράγοντες πήξης κ. α., ενεργοποιούνται οι αιμοστατικές αντιδράσεις. Έτσι αρχικά επέρχεται η προσωρινή αιμόσταση κατά την οποία σχηματίζεται ο πρωτογενής αιμοστατικός θρόμβος (λευκός θρόμβος-δεν περιέχει ερυθρά αιμοσφαίρια) και ακολουθεί η μόνιμη αιμόσταση, κατά την οποία σχηματίζεται ο δευτερογενής μόνιμος ή οριστικός αιμοστατικός θρόμβος (ερυθρός θρόμβος-περιέχει ερυθρά).

Ο μηχανισμός της αιμόστασης είναι ένα δυναμικό σύστημα, το οποίο ανάλογα με την πιθανή διαταραχή του μπορεί να επιφέρει αιμορραγία ή θρόμβωση. Σε θρόμβωση, ο αιμοστατικός μηχανισμός υπόκειται σε αυτοπεριορισμό, ώστε να αποφεύγεται ο συνεχής σχηματισμός θρόμβων, ενώ παράλληλα λειτουργεί και ο αντιθρομβωτικός μηχανισμός κατά τον οποίο 1) σχηματίζεται προστακυκλίνη από το αγγειακό τοίχωμα, 2) ενεργοποιείται η πρωτεΐνη C και το ινωδολυτικό σύστημα και 3) σχηματίζεται σύμπλοκο θρομβίνης- αντιθρομβίνης.

1.5.1 ΑΙΜΟΣΤΑΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ^[12, 15]

Τα αιμοπετάλια είναι θραύσματα των μεγακαρυοκυττάρων και μορφολογικά είναι κύτταρα χωρίς πυρήνα. Περιέχουν εκτεταμένο δίκτυο από μικροσωληνίσκους και σύστημα ακτίνης- μυοσίνης. Όταν δεν είναι ενεργοποιημένα, η περικυτταρική τους μεμβράνη εκτείνεται προς το εξωτερικό μέρος παρέχοντας εύκολη πρόσβαση στους υποδοχείς και στα φωσφολιποειδή που είναι απαραίτητα για τη διαδικασία της πήξης. Τα αιμοπετάλια περιέχουν διάφορα κοκκία τα οποία έχουν: α) ασβέστιο, ADP και σεροτονίνη, β) ανταγωνιστές της ηπαρίνης, PDGF, παράγοντα Willebrand (vWF), ινωδογόνο, β-θρομβοσφαιρίνη και γ) υδρολυτικά ένζυμα.

Τα αιμοπετάλια συντελούν στην άμυνα του οργανισμού, τη σχετική με την απώλεια αίματος, διότι διατηρούν συνεχή την ακεραιότητα του ενδοθηλίου και δημιουργούν τον θρόμβο (αιμοπεταλιακό). Σε ελάχιστο χρόνο από τη ρήξη του ενδοθηλίου (ένα ή δύο δευτερόλεπτα), τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στον εκτεθειμένο υποενδοθηλιακό κολλαγόνο του ιστού με τη βοήθεια του παράγοντα Willebrand (vWF) και γλυκοπρωτεϊνών. Η προσκόλλησή τους αυτή επηρεάζεται από τον αριθμό των ερυθροκυττάρων, τη ροή του αίματος και την παρουσία διαφόρων παραγόντων του πλάσματος (αγωνιστές), όπως ο PAF. Στη συνέχεια απελευθερώνεται διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και σεροτονίνη από τα κοκκία των αιμοπεταλίων με τη δράση των συσταλτών ινών τους (ακτίνη, μυοσίνη, θρομβοσθενίνη). Οι ουσίες αυτές μεταβάλλουν τη μορφολογία των αιμοπεταλίων, συντελούν στη συγκόλληση τους και προσελκύουν περισσότερα αιμοπετάλια στη θέση της βλάβης, τα οποία αντιδρούν μεταξύ τους αλλά και με τα ήδη συγκολληθέντα αιμοπετάλια, ώστε να εκκριθεί περισσότερο ADP και τελικά να σχηματισθεί ένας αιμοπεταλιακός θρόμβος. Για τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων σημαντικός είναι και ο ρόλος της θρομβοξανθής A_2 , της αδρεναλίνης και θρομβίνης (παρουσία ινωδογόνου, ασβεστίου και μαγνησίου), που προκαλούν τη συστολή των αγγείων και μειώνουν την αιματική ροή στην περιοχή της βλάβης. Τέλος από τα συναθροισμένα αιμοπετάλια προέρχεται και ο τρίτος αιμοπεταλιακός παράγοντας (PF_3), ο οποίος ενεργοποιεί πολλούς παράγοντες πήξης.

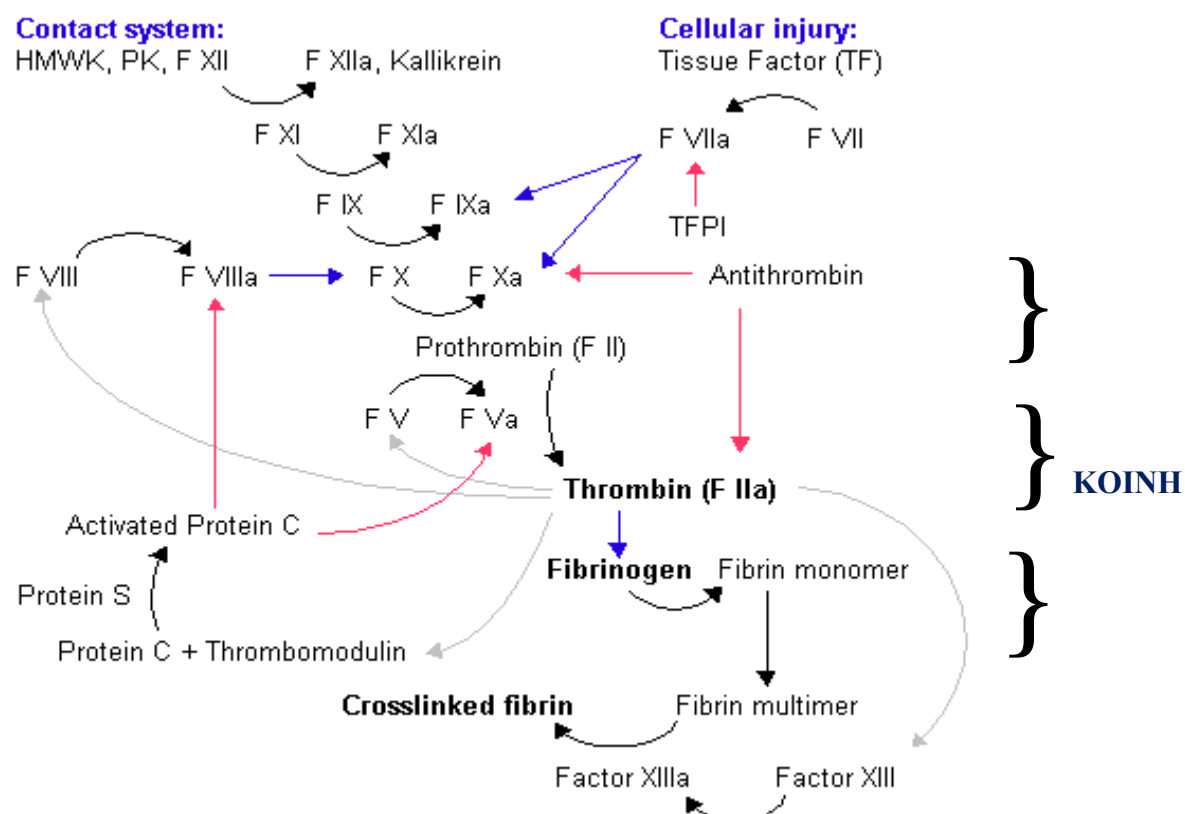
Όταν η τοπική πήξη σταματά, απομακρύνονται από τη θέση τη βλάβης δια του ρέοντος αίματος όλοι οι προαναφερόμενοι παράγοντες, συρρικνώνεται ο σχηματισμένος θρόμβος και διαλύεται με τη δράση της θρομβοσθενίνης.

1.6 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΘΡΟΜΒΟΥ ΚΑΙ ΠΗΞΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ^[12]

Ο μηχανισμός της πήξης του αίματος γενικά κινητοποιείται όταν το αίμα εξέλθει από τα αγγεία και έλθει σε επαφή με «διαβρεχόμενη» επιφάνεια (κολλαγόνο, τραυματισμένο ενδοθήλιο κ.α.). Η αποστολή του μηχανισμού πήξης είναι η μετατροπή (στη θέση βλάβης του αγγείου) του διαλυτού ινωδογόνου σε αδιάλυτο δίκτυο ινώδους (θρόμβος) και η παγίδευση ερυθροκυττάρων και αιμοπεταλίων στο ινώδες δίκτυο αυτό, ώστε να σταθεροποιηθεί ο αιμοπεταλιακός θρόμβος. Η θρόμβωση ενισχύεται από την πήξη του αίματος που περιλαμβάνει ένα καταρράκτη ενζυμικών αντιδράσεων. Η ενεργοποίησή της μπορεί να γίνει μέσω δύο πορειών όπως παρουσιάζεται και στο σχήμα 1.3, είτε με ενδογενή διέγερση (ενδογενής πορεία) είτε με εξωγενή διέγερση π.χ. τραυματισμός (εξωγενής πορεία). Οι δυο πορείες μεταξύ τους δεν είναι ανεξάρτητες αλλά αλληλεπιδρούν και καταλήγουν στο σχηματισμό του ενζύμου που καταλύει την παραγωγή της θρομβίνης.

- Η εξωγενής πορεία ενεργοποιείται όταν τα ιστικά κύτταρα στην περιοχή της βλάβης έρθουν σε επαφή με το αίμα. Συγκεκριμένα μια πρωτεΐνη που εκτίθεται στην επιφάνεια των ιστικών κυττάρων και ονομάζεται ιστικός παράγοντας συνδέεται με μια πρωτεΐνη του πλάσματος, τον παράγοντα VII, ο οποίος καταλύει την ενεργοποίηση του και την παραγωγή του παράγοντα VIIa. Στη συνέχεια ακολουθεί η μετατροπή του παράγοντα IX σε IXa και του παράγοντα X σε Xa.

- Η ενδογενής πορεία ενεργοποιείται από μια πρωτεΐνη του πλάσματος, τον παράγοντα XII, ο οποίος μετατρέπεται στην ενεργή μορφή του (XIIa) όταν έρθει σε επαφή με συγκεκριμένες επιφάνειες, όπως το εκτεθειμένο στην περιοχή της βλάβης κολλαγόνο. Στην συνέχεια ακολουθεί η διαδοχική ενεργοποίηση των παραγόντων XI σε XIa, IX σε IXa και X σε Xa.



Σχήμα 1.3: Ενδογενής και εξωγενής πορεία σχηματισμού θρόμβου.

Ο παράγοντας Xa, στον οποίο καταλήγουν και οι δύο πορείες, καταλύει την μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη. Η παραγόμενη θρομβίνη, ενεργοποιώντας πολλά ένζυμα του καταρράκτη των ενζυμικών αντιδράσεων, ενισχύει την παραγωγή της (θετική ανατροφοδότηση). Η θρομβίνη στη συνέχεια καταλύει την υδρόλυση αρκετών αρνητικά φορτισμένων πεπτιδίων από το ινωδογόνο προς σχηματισμό μονομερούς ινώδους. Τα μονομερή του ινώδους συνδέονται μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα δίκτυο νηματίων, το ινώδες, το οποίο σταθεροποιείται με σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών. Η δημιουργία των δεσμών καταλύεται από τον παράγοντα XIII, ο οποίος ενεργοποιείται σε XIIIa από τη θρομβίνη. Η δράση του παράγοντα XIIIa προκαλεί το σχηματισμό ενός σταθερού τρισδιάστατου δικτύου, το οποίο παγιδεύει τα αιμοπετάλια και τα άλλα κύτταρα σχηματίζοντας ένα θρόμβο που καλύπτει το κενό που έχει δημιουργηθεί στο αγγείο.

Αρκετές από τις αντιδράσεις του καταρράκτη πήξης απαιτούν την ύπαρξη ιόντων ασβεστίου και τη σύνδεση των συμπλόκων στις μεμβράνες των αιμοπεταλίων. Επιπλέον η βιταμίνη K εμπλέκεται άμεσα στη διαδικασία της πήξης αφού είναι απαραίτητη για την

αντίδραση καρβοξυλίωσης των ομάδων του γλουταμικού σε αρκετούς από τους παράγοντες πήξης (VII, IX, X, II).

Παράγοντας	Όνομα	Δράση
I	Ινωδογόνο	Πρόδρομο μόριο του μονομερούς ινώδους
II	Προ-θρομβίνη	Πρωτεάση σερίνης
III	Ιστικός Παράγοντας	Υποδοχέας και συμπαράγοντας
IV	Ca^{2+}	Συμπαράγοντας
V	Προ-αξελερίνη	Συμπαράγοντας
VII	Προ-κονβερίνη	Πρωτεάση σερίνης
VIII	Αντι- αιμοφιλικός παράγοντας A	
IX	Αντι- αιμοφιλικός παράγοντας B (Christmas factor)	Πρωτεάση σερίνης
X	Παράγοντας Stuart-Power	Πρωτεάση σερίνης
XI	Πρόδρομη θρομβοπλασίνη πλάσματος (plasma thromboplastin antecedent) Αντι- αιμοφιλικός παράγοντας A	Πρωτεάση σερίνης
XII	Παράγοντας Hageman	Πρωτεάση σερίνης
XIII	Παράγοντας σταθεροποίησης ινώδους	Ca^{2+} -εξαρτώμενη τρανσγλουταμινάση
	Προκαλλικρεΐνη, Παράγοντας Fletcher	Πρωτεάση σερίνης
	Κινογόνο υψηλού MB, Παράγοντας Fitzgerald	Συμπαράγοντας
HMWK	Υψηλού Μοριακού Βάρους Κινογόνο	Αμοιβαία ενεργοποίηση XII, XI, και PK
PK	Πρι-καλλικρεΐνη	Ενεργοποιεί XII διασπά HMWK
PF	Αιμοπεταλιακοί Παράγοντες	

1.6.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΔΡΟΥΝ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΣΤΗ ΘΡΟΜΒΩΣΗ ^[12]

Ο σχηματισμός του θρόμβου πρέπει να περιοριστεί στο σημείο της βλάβης και να μην επεκταθεί σε φυσιολογικές περιοχές του ενδοθηλίου. Για αυτό το λόγο η θρόμβωση είναι μια διαδικασία που ελέγχεται από τον οργανισμό. Τα σημαντικότερα σημεία ρύθμισης είναι τα εξής:

1) Η σύνθεση και η έκκριση προστακυκλίνης (PGI_2 –αγγειοδιασταλτικός- αντιθρομβωτικός παράγων) όπως και του μονοξειδίου του αζώτου (NO-ενδοθηλιακός χαλαρωτικός παράγων), το οποίο παράλληλα με την αγγειοδιασταλτική του δράση, εμποδίζει την προσκόλληση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο.

2) Η ηλεκτραρνητικότητα στην επιφάνειά του ενδοθηλίου που απωθεί αρνητικώς φορισμένα ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια και πρωτεΐνες του πλάσματος.

3) Η αποικοδόμηση του ADP των ενδοθηλιακών κυττάρων (το ADP συντελεί στη συγκόλληση των αιμοπεταλίων).

4) Η θρομβίνη εκτός από την προ-θρομβωτική δράση εμφανίζει και αντι-θρομβωτική (αρνητική ανατροφοδότηση) η οποία εκδηλώνεται με δέσμευσή της σε ειδικό υποδοχέα στη μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων που ονομάζεται θρομβοτροποποιητίνη (θρομβομοντουλίνη). Η δέσμευση της θρομβίνης ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C η οποία δεσμεύεται με την πρωτεΐνη S και ενεργοποιείται. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC, activated protein C) αδρανοποιεί τους παράγοντες Va και VIIIa και μειώνει την παραγωγή θρομβίνης. Επιπλέον η APC επάγει την παραγωγή προστακυκλίνης.

5) Ο αναστολέας της πορείας του ιστικού παράγοντα (TFPI, tissue factor pathway inhibitor) αποτελεί μια πρωτεΐνη του πλάσματος που εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο παράγοντας αυτός αναστέλλει τη δράση του συμπλόκου του ιστικού παράγοντα με τον παράγοντα VIIa και τον παράγοντα Xa.

6) Η δράση των πρωτεασών σερίνης αναστέλλεται μέσω ειδικών πρωτεϊνών οι οποίες ονομάστηκαν σεπρίνες (Serpins, serine protease inhibitors). Οι πρωτεΐνες αυτές βρίσκονται σε μεγάλη ποσότητα στο πλάσμα και ελέγχουν την δράση των πρωτεασών σερίνης. Η δράση τους αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι μοιάζουν με το φυσικό υπόστρωμα της κάθε πρωτεάσης και δεσμεύονται στο ενεργό κέντρο εμποδίζοντας τη δράση του ενζύμου. Η αντιθρομβίνη III αποτελεί μια σεπρίνη η οποία αναστέλλει τη δράση της θρομβίνης. Η ηπαρίνη η οποία βρίσκεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και στα κοκκία των μαστοκυττάρων είναι θετικός αλλοστερικός τροποποιητής της αντιθρομβίνης III. Η αντιθρομβίνη III μπορεί να αναστείλει τους παράγοντες XIIIa, XIa, IXa και Xa.

1.7 ΛΥΣΗ ΘΡΟΜΒΟΥ (ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ) ^[12, 16]

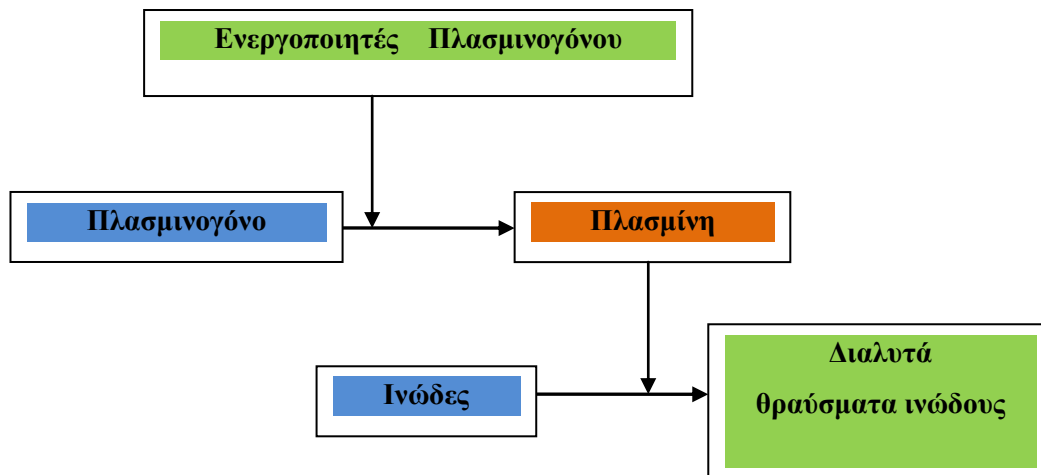
Ο σχηματισμός του θρόμβου στο σημείο της βλάβης είναι ένα μεταβατικό στάδιο στην επιδιόρθωση του αγγείου. Ο σχηματιζόμενος επομένως θρόμβος πρέπει να απομακρυνθεί μετά την επούλωση του αγγείου. Η απομάκρυνση ή λύση του γίνεται μέσω ενός καταρράκτη ενζυμικών αντιδράσεων (παρόμοιο με αυτό της πήξης) που ονομάζεται ινωδόλυση ή θρομβόλυση. Ο μηχανισμός της ινωδόλυσης αρχίζει τη δεύτερη μέρα από την έναρξη του φαινομένου της πήξης του αίματος και διαρκεί μερικές ημέρες, έως ότου τελικά διαλυθεί ο θρόμβος. Ο σχηματισμός και η λύση του ινώδους έχουν μια δυναμική σχέση, η οποία καθορίζει το αιμοστατικό αποτέλεσμα. Έτσι αυξημένη ινωδολυτική δραστηριότητα οδηγεί σε αιμορραγική διάθεση, ενώ αντίθετα, μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα, οδηγεί σε αυξημένη εναπόθεση ινώδους στον οργανισμό.

Τα προϊόντα που προκύπτουν από την ινωδόλυση, ασκούν σημαντικές επιδράσεις στον οργανισμό, όπως: αύξηση της σύνθεσης ινωδογόνου στο ήπαρ, μιτωτική δράση στα κύτταρα, επίδραση στην ικανότητα συγκόλλησης των αιμοπεταλίων (θετική ή αρνητική), χημειοτακτική έλξη των λεμφοκυττάρων κ.α.

Το φαινόμενο της ινωδόλυσης επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως ορμόνες, βιταμίνες, ακτινοβολίες, θερμοκρασία του σώματος, ηλικία, σωματική άσκηση, το φύλλο, κ.α., παρουσιάζει δε ημερήσια διακύμανση, η οποία κυρίως οφείλεται σε διακύμανση του PAI-1. Έτσι, επειδή κατά τις πρωινές ώρες μειώνεται η ινωδολυτική δραστηριότητα του αίματος και αυξάνει η ικανότητα συγκόλλησης των αιμοπεταλίων, δικαιολογείται και το αυξημένο ποσοστό εμφάνισης εμφραγμάτων κατά το χρονικό διάστημα αυτό.

1.7.1 ΤΟ ΙΝΩΔΟΛΥΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ^[12]

Η φυσιολογία του ινωδολυτικού συστήματος είναι ανάλογη με εκείνη του συστήματος πήξης: Δημιουργείται αρχικά ένα προένζυμο του πλάσματος το πλασμινογόνο, το οποίο είναι μια πρωτεΐνη που έχει μεγάλη συγγένεια για το ινώδες και ενσωματώνεται στο σχηματιζόμενο ινώδες δίκτυο. Το πλασμινογόνο μετατρέπεται στην ενεργή του μορφή που είναι η πλασμίνη, μέσω ειδικών πρωτεϊνών που ονομάζονται ενεργοποιητές του πλασμινογόνου. Η ενεργοποίηση μπορεί να λάβει χώρα τόσο στο αίμα όσο και στην επιφάνεια του θρόμβου. Η πλασμίνη είναι πρωτεάση σερίνης και διασπά το ινώδες προκαλώντας λύση του θρόμβου.



Σχήμα 1.4: Το βασικό ινωδολυτικό σύστημα

1.7.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥ ΙΝΩΔΟΛΥΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

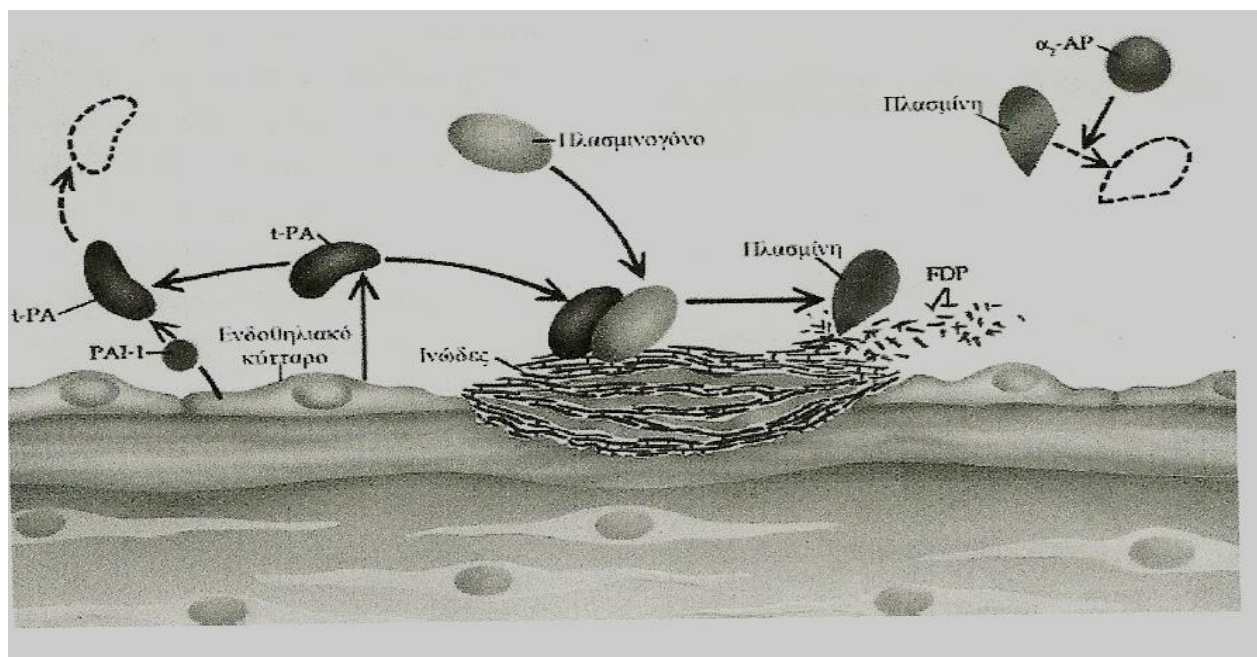
[9, 12,17]

Το ινωδολυτικό σύστημα αποδεικνύεται ότι είναι εξίσου σύνθετο με το σύστημα πήξης, με ποικίλους τύπους ενεργοποιητών του πλασμινογόνου και ποικίλες οδούς σχηματισμού τους, καθώς και διάφορους αναστολείς αυτών των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου.

Οι **παράγοντες ενεργοποίησης του πλασμινογόνου** διακρίνονται σε ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες.

Ενδογενείς Παράγοντες:

- Ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (t-PA, tissue- Plasminogen Activator) παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ενσωματώνεται στο θρόμβο κατά τη διάρκεια του σχηματισμού του. Ο t-PA μπορεί να οδηγήσει σε παραγωγή πλασμίνης στην κυκλοφορία του αίματος, όμως η πλασμίνη απενεργοποιείται γρήγορα μέσω δέσμευσης με την ειδική σεπρίνη την α2-αντιπλασμίνη. Η παρουσία του ινώδους είναι σημαντική αφ' ενός για τη δράση του t-PA, αφ' ετέρου για την προστασία της πλασμίνης από τις σεπρίνες του πλάσματος. Η APC εκτός από το να μειώνει τη θρόμβωση επάγει και την έκκριση του t-PA και ταυτόχρονα αναστέλλει τον αναστολέα του t-PA τον PAI-1 (PA Inhibitor-1). Στο σχήμα 1.5 φαίνεται ο μηχανισμός ινωδονόλυσης και ο ρόλος του PAI-1.



Σχήμα 1.5: Μηχανισμός Ινωδόλυσης. Α2ΑΡ: αδρανοποιός της πλασμίνης. FDP: προϊόντα διασπάσεως του ινώδους ^[17]

- Η ουροκινάση ενεργοποιεί επίσης το πλασμινογόνο του πλάσματος και το πλασμινογόνο που βρίσκεται στο θρόμβο του αίματος. Έτσι όταν χορηγηθεί σε άτομο με έμφραγμα, λύει το θρόμβο.

Εξωγενείς Παράγοντες:

- Η στρεπτοκινάση σχηματίζει το ενεργό σύμπλεγμα στρεπτοκινάση- πλασμινογόνο, το οποίο στη συνέχεια ενεργοποιεί και άλλα μόρια πλασμινογόνου του πλάσματος ή των θρόμβων αίματος.

Οι ανασταλτικοί παράγοντες του ινωδολυτικού συστήματος διακρίνονται σε ανασταλτικούς παράγοντες του πλασμινογόνου και των ενεργοποιών του και σε ανασταλτικούς παράγοντες της πλασμίνης.

Ανασταλτικοί παράγοντες του πλασμινογόνου και των ενεργοποιών του πλασμινογόνου:

- Ο αδρανοποιός του πλασμινογόνου είναι γλυκοπρωτεΐνη του πλάσματος που μπορεί να δεσμεύσει μέχρι και το 50% του πλασμινογόνου.
- Οι αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου είναι ο PAI-1, PAI2, PAI3 και η πρωτεάση νεξίνη. Ο PAI-1 είναι γλυκοπρωτεΐνη που απαντά στο πλάσμα του αίματος και τα α-κοκκία των αιμοπεταλίων. Η σύνθεση και η έκκρισή του επηρεάζονται θετικά από τη θρομβίνη, την IL-1, τα γλυκοκορτικοειδή, την Lp(a) κ.α. Εμφανίζεται αυξημένος κατά το έμφραγμα του

μυοκαρδίου, σε μετεγχειρητική περίοδο, σε παχυσαρκία κ.α. Αδρανοποιεί εκτός από το πλασμινογόνο και τον t-PA.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΚΡΑΣΙ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

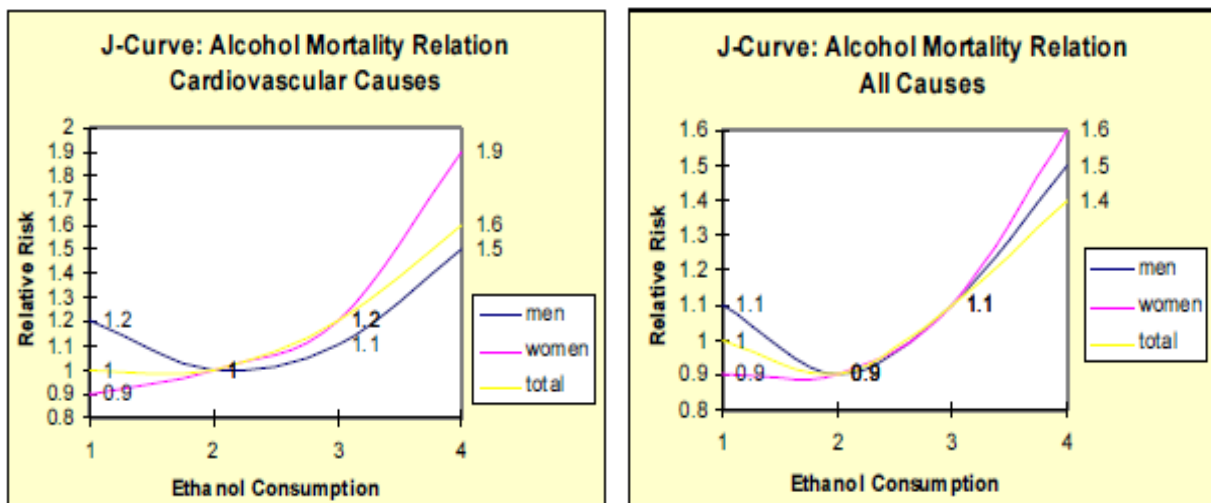
Η διατροφή έχει αποτελέσει σημαντικό πεδίο συζήτησης και από τα μέσα του 20^{ου} αιώνα έχει αναγνωριστεί ως ένας σημαντικός παράγοντας για τη διατήρηση της υγείας. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν εξετάσει το ρόλο διάφορων θρεπτικών συστατικών στην επίπτωση χρόνιων νοσημάτων και στην αύξηση της μακροζωίας.^[18, 19, 20] Για αυτό το λόγο ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO), όσο και διάφορες χώρες, συμπεριλαμβανομένου και της Ελλάδας, έχουν εκδώσει διατροφικές οδηγίες για τον πληθυσμό τους με τη μορφή προτύπων (patterns).

Η μεσογειακή δίαιτα αποτελεί ένα διατροφικό πρότυπο, αρκετά διαδεδομένο, που έχει συσχετιστεί σε πολλές μελέτες με μειωμένα ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας από καρδιαγγειακά, εμφάνιση καρκίνου κ.α.^[21, 22] Χαρακτηριστικό του προτύπου της Μεσογειακής δίαιτας, αποτελεί και η μέτρια κατανάλωση κρασιού (1-2 ποτηράκια την ημέρα), το οποίο συνοδεύει συνήθως τα γεύματα.^[23]

Το κρασί και το ελαιόλαδο, που έχουν συσχετιστεί με μείωση διάφορων βιοχημικών δεικτών και την πρόληψη πολλών χρόνιων νοσημάτων, έχουν βρεθεί στο στόχαστρο των ερευνητών καθώς αποτελούν δύο συστατικά που διαφοροποιούν τη Μεσογειακή δίαιτα από άλλα διατροφικά πρότυπα.^[24]

2.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η αθηρωμάτωση, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, είναι μια φλεγμονώδης κατάσταση που μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει τα τελευταία χρόνια ότι η κατανάλωση 20-30 γρ αλκοόλ την ημέρα, συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου καθώς και της θνησιμότητας που συνδέει τις ασθένειες αυτές.^[25, 26, 27] Μάλιστα η σχέση της κατανάλωσης αλκοόλ και του κινδύνου θανάτου από διάφορα αίτια έχει σχήμα U (U- shaped curve), καθώς η υπερβολική κατανάλωση ή η μηδενική αυξάνουν τον κίνδυνο θανάτου, συγκριτικά με τη μέτρια κατανάλωση (σχήμα 2.1).^[28, 29]



Σχήμα 2.1: Κίνδυνος θανάτου από όλα τα αίτια και από καρδιαγγειακά νοσήματα σε σχέση με το αλκοόλ. 1:<1 ποτό το μήνα, 2:< 1-2 ποτά την ημέρα, 3:> 3-5 ποτά την ημέρα, 4:>6 ποτά την ημέρα

Το ενδιαφέρον των ερευνητών στο κρασί και την ευεργετική του δράση όσον αφορά τα καρδιαγγειακά, στράφηκε μετά το 1992 και την παρατήρηση του Renaud De Lorgeril, το επονομαζόμενο « Γαλλικό παράδοξο». Συγκεκριμένα ο De Lorgeril προσπάθησε να διερευνήσει γιατί οι Γάλλοι που κατανάλωναν αρκετά λιπαρά μέσα από τη διατροφή που έκαναν εμφάνιζαν χαμηλά επίπεδα καρδιαγγειακών, και συσχέτισε την υψηλή κατανάλωση κρασιού με μειωμένο κίνδυνο από καρδιαγγειακά νοσήματα.^[30] Αμέσως μετά, η υποστήριξη για μια εντονότερη καρδιοπροστατευτική επίδραση της κατανάλωσης ερυθρού οίνου σε σύγκριση με άλλα αλκοολούχα ποτά, ήρθε από τη μελέτη Heart της Κοπεγχάγης, η οποία έγινε προοπτικά για πάνω από 12 χρόνια σε δείγμα 13.285 ανδρών και γυναικών.^[31] Τα αποτελέσματα από αυτή τη μελέτη πρότειναν ότι τα άτομα με χαμηλή έως μέτρια κατανάλωση κρασιού διέτρεχαν το μισό κίνδυνο θανάτου από κάποια καρδιαγγειακή νόσο σε σχέση με εκείνους που δεν έπιναν ποτέ κρασί. Η μύρα και τα αναψυκτικά δεν έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα. Τα ευρήματα αυτά ενισχύθηκαν όταν η ίδια ομάδα, που εκτελούσε συγκεντρωτικές διαχρονικές μελέτες παρατήρησης (cohort studies), συμπεριέλαβε και άλλους συγχυτικούς παράγοντες όπως τον τύπο του καταναλισκόμενου αλκοόλ, το κάπνισμα, το επίπεδο εκπαίδευσης, τη σωματική δραστηριότητα, και το ΔΜΣ. Τα άτομα που κατανάλωναν μια μέτρια ποσότητα αλκοόλ είχαν σχετικό κίνδυνο 0,9 σε σχέση με αυτούς που δεν έπιναν. Όμως τα άτομα που κατανάλωναν κρασί είχαν σχετικό κίνδυνο 0,66 σε σχέση με αυτούς που δεν έπιναν τίποτα. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση κρασιού μπορεί να έχει μεγαλύτερη ευεργετική επίδραση στη θνησιμότητα από κάθε αιτία σε σχέση με την προστασία που επιφέρει η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ.^[32]

Το όφελος του κρασιού για την υγεία σε σύγκριση με άλλα αλκοολούχα ποτά υποστηρίζεται από μια μετα-ανάλυση του Castelnuovo όπου εξετάστηκαν 26 έρευνες. Τα δεδομένα από 13 μελέτες που αφορούν 209.418 άτομα, έδειξαν ότι η μείωση του κινδύνου για αγγειακά επεισόδια που συνδέεται με την κατανάλωση κρασιού ήταν 32%, και μόνο 22% από την κατανάλωση μπύρας.^[33]

Έκτοτε πραγματοποιήθηκαν πολλές επιδημιολογικές μελέτες και μάλιστα στην τελευταία έκθεση της Framingham Study που συσχετιζε την κατανάλωση αλκοόλ με το ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, μόνο το κρασί σχετιζόταν με μειωμένο κίνδυνο και όχι η μπύρα ή τα άλλα οينوπνευματώδη ποτά.^[34]

Υπάρχουν όμως και άλλες εξίσου σημαντικές μελέτες οι οποίες καταλήγουν σε αντίθετα συμπεράσματα όσον αφορά το κρασί. Πιο αναλυτικά στην Physicians Health Study στην οποία παρακολουθούνταν 21537 γιατροί από τις ΗΠΑ για 12 χρόνια προέκυψε το συμπέρασμα ότι οι άνδρες που διατηρούσαν μια μέτρια κατανάλωση 2-6 ποτών την εβδομάδα στη μορφή είτε κρασιού, είτε μπύρας, είτε κάποιου λικέρ, είχαν σημαντικά μειωμένο κίνδυνο συγκριτικά με εκείνους που δεν κατανάλωναν καθόλου ή κατανάλωναν σπάνια αλκοόλ.^[35] Επίσης σε παλαιότερες μελέτες των Klatsby et al,^[36] δεν φάνηκε υπεροχή του κρασιού σε σχέση με άλλα αλκοολούχα ποτά, κάτι που όμως φάνηκε από την ίδια ερευνητική ομάδα το 2003, όπου παρατηρήθηκε ισχυρότερη συσχέτιση του κρασιού σε σχέση με την πρόσληψη αλκοόλ γενικότερα.^[37]

Βέβαια, δεν είναι εύκολο να καταλήξει κανείς στο εάν το αλκοόλ ή ειδικά το κρασί είναι αυτό που έχει ευεργετική δράση ενάντια στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, καθώς σε όλες σχεδόν τις έρευνες υπάρχουν περιορισμοί λόγω των διαφόρων συγχυτικών παραγόντων που δεν είναι εύκολο να ληφθούν υπόψη. Για παράδειγμα αυτή η προστατευτική δράση μπορεί να οφείλεται σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των ατόμων που προτιμούν το κρασί (φύλο, κάπνισμα, κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, διατροφικές συνήθειες κ. α.) ή στον τρόπο με τον οποίο καταναλώνεται. Συνήθως το κρασί προτιμάται κατά τη διάρκεια των γευμάτων, σε αντίθεση με τη μπύρα ή τα άλλα οينوπνευματώδη ποτά που συνήθως καταναλώνονται άστατα καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας.^[38,31] Αυτό επιτρέπει καλύτερη απορρόφηση της αιθανόλης και καθυστερεί τις μεταγευματικές μεταβολές των παραγόντων πήξης, φλεγμονής που επηρεάζουν αρνητικά την ενδοθηλιακή λειτουργία.^[39, 40] Παρόλα αυτά το κρασί περιέχει πολλά συστατικά με αντιοξειδωτική δράση και όχι μόνο, που το καθιστούν ένα ενδιαφέρον ποτό για μελέτη.

2.3 ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΡΑΣΙΟΥ^[41]

Μέχρι σήμερα από την ανάλυση του κρασιού με πιο σύγχρονες τεχνικές χρωματογραφίας έχουν αναγνωριστεί περισσότερα από 500 συστατικά. Φυσικά η ακριβής σύσταση και οι συγκεντρώσεις των επιμέρους συστατικών του κρασιού διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία των σταφυλιών που χρησιμοποιούνται, το χρόνο ωρίμανσης, τις κλιματολογικές συνθήκες κατά την ωρίμανση των σταφυλιών, την περιοχή στην οποία αναπτύσσονται και πολλούς άλλους παράγοντες.^[42] Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι κάθε κρασί που εξετάζεται έχει δική του σύσταση, και η όποια ανάλυση των επιμέρους συστατικών του κρασιού, αφορά την πλειοψηφία των κρασιών ή το μέσο όρο των συγκεντρώσεων των συστατικών του. Σε προηγούμενες μελέτες στο εργαστήριο δοκιμάστηκαν διάφορα είδη λευκού και κόκκινου κρασιού όσον αφορά την ικανότητά τους να αναστέλλουν τη προκαλούμενη από PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων και τη συνολική αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη ικανότητά τους. Βρέθηκε λοιπόν, ότι το λευκό κρασί Ambelon, κύρια ποικιλία Ρομπόλα, και το κόκκινο Cabernet Sauvignon, κύρια ποικιλία Cabernet Sauvignon, είχαν την καλύτερη δράση.^[43-47] Για το λόγο αυτό στην παρούσα μελέτη επιλέχθηκαν τα δύο αυτά κρασιά για να μελετηθεί και η δράση τους στον ανθρώπινο οργανισμό μεταγευματικά. Αναλυτικότερα στον πίνακα 2.1 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των πιο διαδεδομένων συστατικών που απαντώνται στο κρασί.^[41]

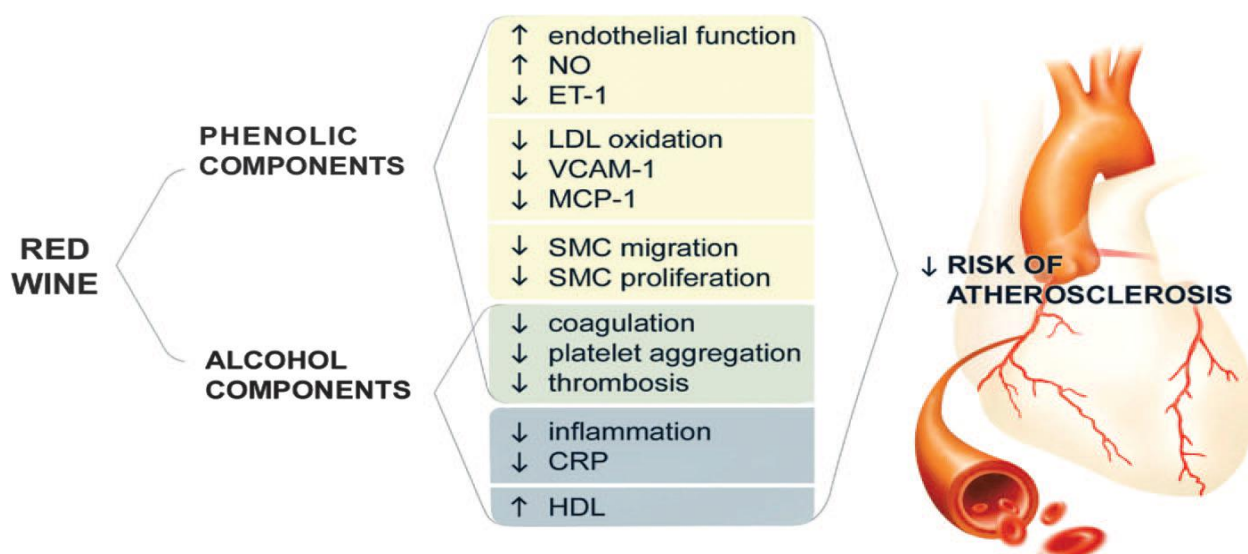
Πίνακας 2.1. Συγκεντρώσεις των πιο διαδεδομένων συστατικών του κρασιού

Συστατικό	Συγκέντρωση (g/100ml)
Νερό	80-90
Υδατάνθρακες/σάκχαρα	0.2-0.45
Αλκοόλες (κυρίως αιθανόλη)	8.0-15.3
Γλυκερόλη	0.30-1.40
Αλδεΐδες	0.01-0.050
Οργανικά οξέα (e.g. tartaric, etc.)	0.3-1.10
Συστατικά Αζώτου	0.01-0.09

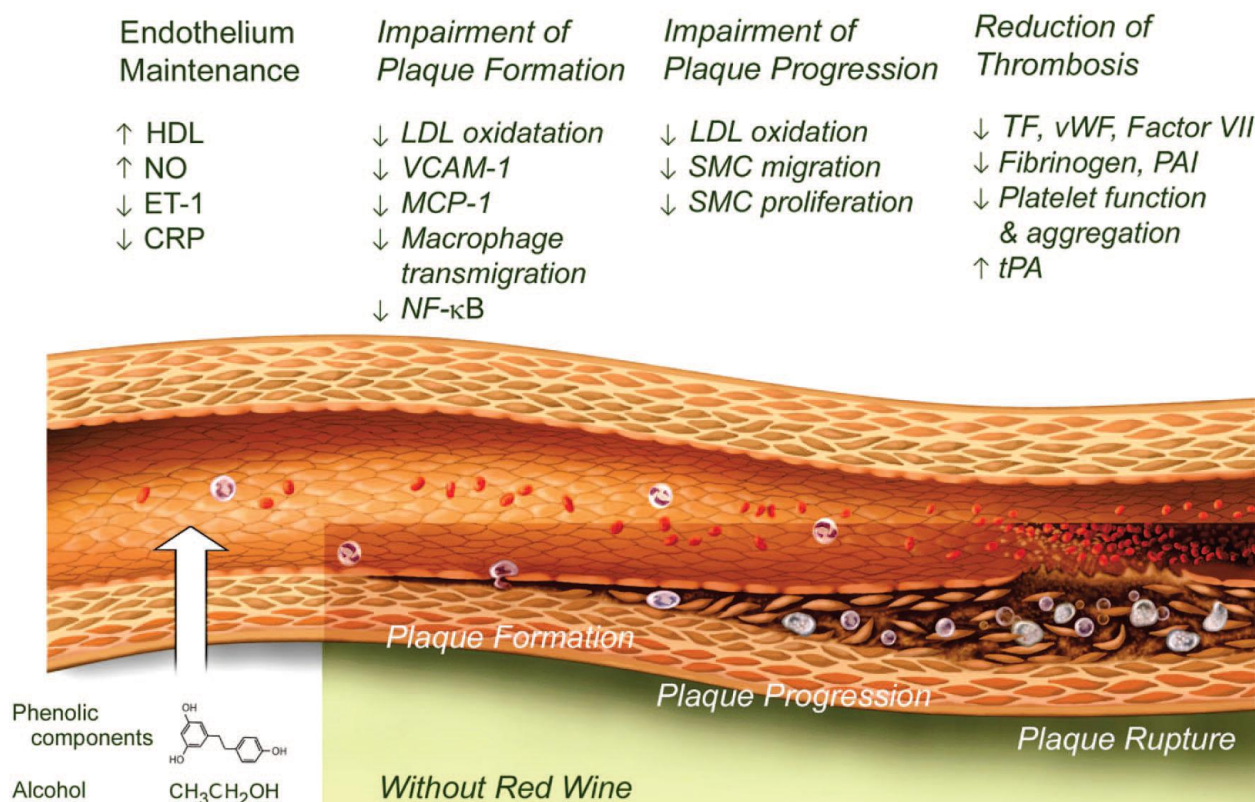
Ιχνοστοιχεία (Κ, κτ.λ.)	0.15-0.40
Ολικά λιποειδή	0.04-0.08
Ολικές φαινολικές ενώσεις	0.09-0.25 κόκκινο 0.02-0.029 λευκό

Αν και έχουν περιγραφεί διάφοροι μηχανισμοί οι οποίοι ενδεχομένως εμπλέκονται ή υπεισέρχονται στον τρόπο δράσης του οиноπνεύματος, όπως η αύξηση της HDL, η μείωση συσσώρευσης αιμοπεταλίων και η αύξηση της ινωδολύσης,^[48] αρκετοί ερευνητές αποδίδουν αυτή την ευεργετική δράση στο κρασί και όχι στα άλλα αλκοολούχα ποτά.^[49] Μια σειρά από in vitro και in vivo μελέτες δείχνουν ότι διάφορα συστατικά που περιέχονται στο κρασί, πέρα από την αιθανόλη, μπορεί να διαδραματίσουν ενεργό ρόλο στην προστασία από την εμφάνιση αλλά και στον περιορισμό της εξέλιξης της αθηρωμάτωσης, όπως παρουσιάζεται και στο σχήμα 2.2.^[50, 51] Σύμφωνα με αρκετές μελέτες τα συστατικά στα οποία οφείλει το κρασί τις ευεργετικές του δράσεις είναι τα λιποειδή (γλυκοζίτες φαινολικών, γλυκολιποειδή, φωσφο-γλυκο-λιποειδή) και οι φαινολικές ενώσεις.^[45,46,47]

Οι φαινολικές ουσίες του κρασιού, που θεωρούνται και τα κύρια βιοδραστικά συστατικά του, χωρίζονται σε δύο ομάδες (πίνακας 2.2) , τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή. Το πιο κοινό φλαβονοειδές στο κόκκινο κρασί είναι οι φλαβονόλες, όπως η κερκετίνη, και οι φλαβανόλες, όπως οι τανίνες και κατεχίνες, ενώ μεταξύ των μη φλαβονοειδών η ρεσβερατρόλη είναι η πιο γνωστή.^[52]



Σχήμα 2.2: Πιθανή επίδραση των φαινολικών συστατικών του κόκκινου κρασιού και του αλκοόλ στη μείωση του κινδύνου αθηροσκλήρωσης.^[50]



Σχήμα 2.3: Δράσεις των φαινολικών συστατικών του κρασιού (αγγειοδιασταλτική, αντιφλεγμονώδη, αντι-οξειδωτική αντιθρομβωτική) ^[50]

Πίνακας 2.2: Τα πιθανά βιοδραστικά φαινολικά συστατικά του κρασιού για μείωση κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών

A. Φλαβονοειδή

Ανθοκυανίνες: κυανιδίνη, δελφινιδίνη κ.α.

Φλαβονόλες: κερκετίνη κ.α.

Φλαβανόλες: κατεχίνες, προκυανιδίνες

Προανθοκυανιδίνες κ.α.

B. Μη Φλαβονοειδή

ρεσβερατρόλη

γαλικό οξύ κ.α.

2.4 ΠΙΘΑΝΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ [29, 53]

Το αλκοόλ επηρεάζει ένα ευρύ φάσμα αγγειακών και βιοχημικών λειτουργιών που έχουν τη δυνατότητα να επιδρούν καρδιοπροστατευτικά. Οι αλλαγές που επιφέρει στο προφίλ των λιπιδίων, συμπεριλαμβανομένων της αύξησης της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL) θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό μηχανισμό για τη μείωση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο. Ωστόσο, άλλες αλλαγές που μπορεί να επιφέρει στο ενδοθήλιο, στις αγγειακές, μυοκαρδιακές και αιμοστατικές λειτουργίες μπορεί να είναι εξίσου σημαντικές, συμβάλλοντας συλλογικά στη μείωση του συνολικού κινδύνου για καρδιαγγειακά. Οι εντοπιζόμενες δράσεις του αλκοόλ περιλαμβάνουν τη μειωμένη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, τη μειωμένη επαναιμάτωση του μυοκαρδίου λόγω ισχαιμίας, όπως και την αυξημένη δραστηριότητα του ενδοθηλίου μέσω έκκρισης αγγειοδιασταλτικών ουσιών. Επίσης αρκετές είναι και οι μελέτες που δείχνουν τη δράση του αλκοόλ σε αντι-αποπρωτικά και προ-απόπρωτικά μονοπάτια και ότι οδηγεί σε μειωμένες συγκεντρώσεις στο πλάσμα του παράγοντα VII και του ινωδογόνου. Επίσης συμβάλλει στην αύξηση της ινωδόλυσης όπως και στην αύξηση των επίπεδων του κολπικού νατριουρητικού πεπτιδίου, οδηγώντας έτσι στην αναστολή της έναρξης / εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης.

Ομοίως, πολλές μελέτες συσχετίζουν και το κρασί που του έχει αφαιρεθεί το αλκοόλ με μειωμένη εμφάνιση καρδιαγγειακών. Υπάρχουν πολλά συστατικά του κόκκινου κρασιού που θα μπορούσαν να έχουν επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα, εμποδίζοντας ή καθυστερώντας την αθηροσκλήρωση. Ο ακριβής μηχανισμός για την ευεργετική δράση του κρασιού δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, αλλά μια σειρά από μονοπάτια μέσω των οποίων εμποδίζει την αθηροσκλήρωση έχουν προταθεί. Αυτές περιλαμβάνουν την αυξημένη αντιοξειδωτική του δράση μέσω της αντίστασης της LDL στην υπεροξειδωση, την αυξημένη δραστηριότητα της HDL λιποπρωτεΐνης και την ενεργοποίηση της παραοξονάσης του ορού. Επιπλέον πολλά βιοδραστικά συστατικά του κρασιού λειτουργούν ως αναστολείς της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων καθώς επίσης οδηγούν στην παραγωγή NO και αναστέλλουν των πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων.

Πίνακας 2.3: Πιθανολογούμενοι Μηχανισμοί της καρδιοπροστατευτικής δράσης του κρασιού Αναστολή της οξειδωσης της LDL

Εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών

Δέσμευση μεταλλοιδόντων

Μεγάλη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών συστατικών

Αύξηση ή διατήρηση της δραστηριότητας της παραοξονάσης
Αναστολή πολλαπλασιασμού λείων μυϊκών κυττάρων και αγγειακής υπερπλασίας
Cell cycle arrest
DNA strand breakage
Μείωση στην έκφραση του cyclin A
Αναστολή των μορίων προσκόλλησης ICAM-1 και VCAM-1 και του PDGF
Αναστολή των P13-K και p38 MAPK
Αναστολή MMP 9
Απόπτωση
Αναστολή των αιμοπεταλίων
Αναστολή του μονοπατιού της κυκλοξυγενάσης
Αναστολή σύνθεσης της θρομβοξάνης B-2
Ενίσχυση της προσταγλαδίνης
Αύξηση των φωσφοδιεστεράσεων (cAMP, cGMP)
Αύξηση της HDL
Αυξημένη σύνθεση απολιποπρωτεΐνων A-1 & A-2
C 20:5 (omega 3)
Χαλάρωση των αρτηριών
Έκφραση eNOS
Αύξηση έκκρισης NO

2.5 ΛΕΥΚΟ VS ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ

Το μεγαλύτερο μέρος της βιβλιογραφίας όσον αφορά την επίδραση του κρασιού στα καρδιαγγειακά νοσήματα ή τις δράσεις του στην υγεία γενικότερα, αφορά το κόκκινο κρασί, το οποίο εξαιτίας του τρόπου οινοποίησης (ζύμωση παρουσία των στέμφυλων) περιέχει αυξημένες ολικές φαινολικές ενώσεις. Σε κάποιες μελέτες φάνηκε ότι το κόκκινο κρασί και όχι το λευκό επιδρούσε καλύτερα στη στεφανιαία ταχύτητα ροής αίματος, στην αύξηση της HDL χοληστερόλης και στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος.^[54,55] Επιπλέον, στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα προ-επώαση με κόκκινο κρασί αλλά όχι με λευκό ανέστειλε τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων που προέρχονται από τον αυξητικό παράγοντα (PDGF).^[56] Αντιθέτως, σε φάση επώασης λευκό κρασί εμπλουτισμένο με φλούδες σταφυλιών (που περιέχουν τις

πολυφαινόλες που βρέθηκαν στο κόκκινο κρασί) παρουσίασε παρόμοια αναστολή στην οξείδωση της LDL που προκαλείται και από το κόκκινο κρασί.^[57]

Βέβαια στη μελέτη των Lamuela-Raventos et al το συμπέρασμα ήταν ότι το λευκό κρασί παρουσίαζε παρόμοια αντιοξειδωτική δράση με το κόκκινο όπως και στη μελέτη των Klatsky et al δεν φάνηκε κάποια ισχυρή διαφορά σε δείκτες θνησιμότητας σε διάφορους τύπους κρασιών και μάλιστα μέτρια δόση (1-2 ποτήρια την ημέρα) λευκού ή κόκκινου κρασιού συνδέθηκε με μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας από κάθε αιτία.^[58, 59] Τέλος σε δύο άλλες μελέτες αξιολογήθηκε το κόκκινο κρασί όσον αφορά την προέλευση και των τύπο του σταφυλιού δίνοντας έτσι έμφαση ότι η ποιότητα των συστατικών είναι αυτή που κάνει τη διαφορά.^[60, 61] Επίσης στη μελέτη των Xanthopoulos et al όπου μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα κόκκινου και λευκού κρασιού βρέθηκαν παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα διάφορων κλασμάτων φαινολικών συστατικών λευκού και κόκκινου κρασιού.^[47] Έτσι προς το παρόν δεν είναι ξεκάθαρο ότι το κόκκινο κρασί υπερέχει έναντι του λευκού.

2.6 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Δυστυχώς παρά την πληθώρα των επιδημιολογικών μελετών το ερώτημα σχετικά με το αν το κρασί ή τα άλλα αλκοολούχα ποτά ασκούν προστατευτική δράση στα καρδιαγγειακά νοσήματα, δεν έχει διασαφηνιστεί ακόμη. Αυτό οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στο γεγονός ότι υπάρχουν λίγες καλά σχεδιασμένες πειραματικές μελέτες σε ανθρώπους που να εξετάζουν τι γίνεται ότι δίνεται κρασί ως παρέμβαση όσον αφορά βιοχημικούς δείκτες, αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτική δράση. Σε μια προσπάθεια ανασκόπησης της υπάρχουσας βιβλιογραφίας όσον αφορά μελέτες παρέμβασης με κρασί σε υγιείς ανθρώπους παρουσιάζεται ο επόμενος πίνακας 2.4.

Πίνακας 2.4: Μελέτες παρέμβασης που εξετάζουν την αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτική δράση του κρασιού.

Πληθυσμός	Χορήγηση	Διάρκεια	Αποτελέσματα	Αναφορά
17 υγιείς άνδρες, μη καπνιστές	Τυχαία 2 ομάδες: • 400 ml κόκκινο κρασί(RW)/ημέρα • 400 ml λευκό κρασί /ημέρα	2 εβδομάδες	↓ υπεροξειδία των λιπιδίων ,TBARS, οξείδωση LDL	Fuhrman, 1995 ^[62]
11 υγιείς άνδρες	Τυχαία 3 ομάδες: • 320 ml κόκκινο • 30 g αλκοόλ διαλυμένο σε 320 ml φρουτοχυμό • 320 ml κρασί χωρίς αλκοόλ	4 εβδομάδες	• Κρασί και αλκοόλ παρόμοια μείωση στη συσσώρευση αιμοπεταλίων και ινωδογόνου • Καμία διαφορά σε άλλους αιμοστατικούς παράγοντες	Pellegrini, 1996 ^[63]
11 υγιείς άνδρες Για ένα μήνα είχαν χωριστεί τυχαία σε 2 γκρουπ και κατανάλωναν δίαιτα υψηλή σε λίπος (HFD) και δίαιτα υψηλή σε φρούτα και λαχανικά (CD)	Για 2 μήνες έπιναν: • 240 ml κόκκινο κρασί/ ημέρα για 2 μήνες • Κανένα άλλο αλκοολούχο δεν καταναλωνόταν	3 μήνες	Όχι διαφορά σε γλυκόζη, ολική χοληστερόλη, LDL, TG ανάμεσα στα δυο γκρουπ με τις 2 διαφορετικές δίαιτες	Cuevas, 2000 ^[64]
92 υγιή άτομα	150 ml κόκκινο κρασί/ ημέρα	• 3εβδομάδες με κρασί • 3εβδομάδες χωρίς αλκοόλ	Καμία στη CRP, ↓ ινωδογόνου	Retterstol , 2004 ^[65]
20 υγιείς άνδρες+ γυναίκες, μη καπνιστές	Τυχαία 2 ομάδες: • 375 ml κόκκινο κρασί(RW)/ημέρα • 375 ml νερό (WHW)/ημέρα	2 εβδομάδες	• Καμία διαφορά σε Ολική χοληστερόλη, LDL, TG, ομοκυστείνη ↑ HDL στο RW • ↓ οξείδωσης LDL στο RW	Tsang, 2004 ^[66]
27 υγιείς άνδρες + γυναίκες, μη καπνιστές	τυχαία από 9 άτομα σε 3 ομάδες: • 200 ml κόκκινο κρασί(RW)/ημέρα • 175 ml κρασί χωρίς αλκοόλ (DRW)/ημέρα • 200 ml νερό	6 εβδομάδες (4 drop out)	• Ολικά φαινολικά στο πλάσμα: ↑ στο RW και στο DRW • Ουρικό οξύ ↑ στο W • Χολερυθρίνη ↓ στο DRW	Arendt, 2005 ^[67]

	(W)/ημέρα		• DNA strand break ↓ στο RW • Καμία επίδραση σε οξείδωση λευκοκυττάρων	
35 υγιείς γυναίκες	Τυχαία 2 ομάδες: • 200 ml κόκκινο κρασί • 200 ml λευκό κρασί	4 εβδομάδες	• ↑HDL και στα δύο κρασιά • Καμία διαφορά στα άλλα λιπίδια • ↓CRP, interleukin-6, ICAM-1, CD40L, VCAM-1, E-selectin	Saccanella, 2007 ^[68]
20 νέοι και 20 άτομα (>50 ετών), υγιείς	Τυχαία 2 ομάδες: • 400 ml κόκκινο κρασί(RW)/ημέρα • 400 ml νερό(W)/ημέρα	2 εβδομάδες	• Καμία διαφορά σε γλυκόζη και λιπίδια • Γλουταθειόνη και μαλοναλδεύδη ↓ στο RW	Micallef, 2007 ^[69]
42 υγιείς άνδρες γυναίκες	• 20-30g αλκοόλ • κόκκινο κρασί • μπύρα • μη αλκοολούχα • νερό	3 εβδομάδες	Αιθανόλη ή μη αλκοολούχο κρασί => ↓ MCP-1, και τη μετανάστευση μονοκυττάρων	Imhof A, 2008 ^[70]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : ΚΡΑΣΙ ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

3.1 ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

Μεταγευματική κατάσταση ορίζεται η κατάσταση στην οποία βρίσκεται ο οργανισμός αμέσως μετά την κατανάλωση ενός γεύματος κατά την οποία λαμβάνει χώρα μια ποικιλία αντιδράσεων. Μετά από κάθε γεύμα γνωρίζουμε ότι τα επίπεδα γλυκόζης, λιποειδών τριγλυκεριδίων κ.λ.π. παραμένουν αυξημένα, και αφού στην εποχή μας οι περισσότεροι άνθρωποι βρίσκονται διαρκώς υπο μεταγευματική φάση, κρίνεται πολύ σημαντικό να διερευνηθεί αυτή η κατάσταση.^[71]

Όπως είναι κατανοητό η μεταγευματική κατάσταση αποτελεί μια πλήρως φυσιολογική διαδικασία, ο πρωταρχικός στόχος της οποίας είναι η παροχή θρεπτικών συστατικών στους ιστούς, χωρίς να τους προκαλεί βλάβες. Προκειμένου να επιτευχθεί αυτό απαιτείται η συντονισμένη δράση του γαστρεντερικού και του ενδοκρινικού συστήματος. Έτσι ο ρυθμός κένωσης του στομάχου ουσιαστικά αποτελεί ένα μηχανισμό ελέγχου της ροής των θρεπτικών συστατικών από το γαστρεντερικό σύστημα στην κυκλοφορία. Η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών από το ήπαρ και τους περιφερικούς ιστούς συμβάλλει στην απομάκρυνση αυτών από την κυκλοφορία, διαμορφώνοντας ένα ισοζύγιο συγκέντρωσης. Επιπλέον η νεφρική λειτουργία αποτελεί μια δικλείδα ασφαλείας στην περίπτωση που η συγκέντρωση ενός θρεπτικού συστατικού υπερβεί τα φυσιολογικά όρια.^[72]

Μετά το 1970, όταν ο Zilversmith συνέδεσε τη αθηροσκλήρωση με τη μεταγευματική κατάσταση, πολλές μελέτες συσχέτισαν τη μεταγευματική φάση με δυσλειτουργία ενδοθηλίου, παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων στον οργανισμό, διαταραχές στο σύστημα πήξης και εμφάνιση οξειδωτικού στρες.^[73, 74] Παράλληλα έγινε κατανοητό ότι ο καρδιαγγειακός κίνδυνος αποτελεί άμεση συνάρτηση του μεταγευματικού μεταβολισμού και κυρίως της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας και λιπαιμίας.^[71, 75, 76] Ωστόσο τα ευρήματα αυτά δε φαίνεται να είναι ξεκάθαρα και το αντικείμενο αυτό αποτελεί πεδίο διαφωνίας ανάμεσα στους ερευνητές.

Ακολούθως θα γίνει μια αναφορά σε χαρακτηριστικά που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της μεταγευματικής κατάστασης όπως η μεταγευματική λιπαιμία, η υπεργλυκαιμία, φλεγμονώδεις διαδικασίες και διαταραχές στην πήξη του αίματος.

3.1.1 ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΛΙΠΑΙΜΙΑ

Η μεταγευματική λιπαιμία είναι μια κατάσταση που συμβαίνει υπό φυσιολογικές συνθήκες αρκετές φορές την ημέρα, όποτε προσλαμβάνουμε λίπος από τη διατροφή. Το λίπος που απορροφάται από τη δίαιτα μεταφέρεται στα χυλομικρά, τα οποία μπορούν να αποδώσουν τα τριγλυκερίδια στους διάφορους ιστούς προς αποθήκευση (λιπώδης ιστός) ή προς άμεση χρησιμοποίηση (καρδιά, σωματικοί μύες). Η μεταγευματική άνοδος των τριγλυκεριδίων στο αίμα διαρκεί περίπου 6-8 ώρες σε υγιείς νορμολιπιδαιμικούς ασθενείς. Σε παθολογικές καταστάσεις η μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία είναι παρατεταμένη.^[73]

Ο φυσιολογικός μεταβολισμός του διαιτητικά προσλαμβανόμενου λίπους περιλαμβάνει την υδρόλυση από κάποια ένζυμα (γαστρική και παγκρεατική λιπάση) και τη δημιουργία μικκυλίων στον εντερικό αυλό με τη βοήθεια χολικών αλάτων. Τα μικκύλια πακετάρονται στο σύμπλοκο Golgi με διάφορες απολιποπρωτεΐνες (Apo-B, Apo A1, Apo-IV), έτσι ώστε να σχηματιστούν τα χυλομικρά. Τα χυλομικρά που απελευθερώνονται από τα επιθηλιακά κύτταρα περνούν στα λεμφικά τριχοειδή και από εκεί αποκτούν τις απολιποπρωτεΐνες CII, CIII και E. στη συνέχεια τα χυλομικρά καταβολίζονται από την λιποπρωτεϊνική λιπάση και αποδίδουν στους ιστούς το 80-90% των τριγλυκεριδίων τους, ενώ τα υπολείμματά τους καταλήγουν στο ήπαρ.

Η άλλη πηγή μεταγευματικών τριγλυκεριδίων είναι οι VLDL λιποπρωτεΐνες, που εκκρίνονται από το ήπαρ, από μια διαδικασία που ρυθμίζει η ινσουλίνη. Οι VLDL λιποπρωτεΐνες, όμοια με τα χυλομικρά, υδρολύονται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση ενώ τα υπολείμματά τους καταλήγουν στο ήπαρ. Κατά την υδρόλυση μπορεί να συμβεί ανταλλαγή τριγλυκεριδίων από τις VLDL λιποπρωτεΐνες στην LDL η οποία είναι ιδιαίτερα αθηρωματική και επικίνδυνη όταν βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στον οργανισμό και HDL χοληστερόλη. Σε μια φυσιολογική κατάσταση κατά την οποία δεν υπάρχουν αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και VLDL λιποπρωτεϊνών, οι δυο κυρίαρχες λιποπρωτεΐνες είναι η LDL που μεταφέρει χοληστερόλη από το ήπαρ στους ιστούς και η HDL χοληστερόλη που κάνει την αντίθετη διαδικασία.^[77]

Όπως αναφέρθηκε στην εποχή μας η διαιτητική πρόσληψη λίπους είναι τέτοια που υπερβαίνει τις βασικές ανάγκες του οργανισμού με αποτέλεσμα οι άνθρωποι ιστοί να έχουν να αντιμετωπίσουν αυξημένες ποσότητες διατροφικού λίπους. Έτσι η απομάκρυνση των τριγλυκεριδίων από την κυκλοφορία μέσω φυσιολογικών μηχανισμών είναι ανεπαρκής και τα επίπεδα τους αυξάνονται στο αίμα προκαλώντας μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία η οποία οδηγεί τελικά στην αναγέννηση αθηρωματικών TRLs (triglyceride- rich lipoproteins).

Τα TRLs, που παράγονται κυρίως στην μεταγευματική φάση, είναι λιποπρωτεΐνες πλούσιες σε τριγλυκερίδια και χωρίζονται σε ενδογενή και εξωγενή. Τα ενδογενή TRLs είναι αυτά που προκύπτουν ως αποτέλεσμα της δράσης των VLDL που βρίσκονται στην κυκλοφορία, ενώ τα εξωγενή είναι αυτά που προκύπτουν κατά το μεταβολισμό των χυλομικρών. Τόσο τα ενδογενή TRLs όσο και τα εξωγενή μοιράζονται το ίδιο μεταβολικό μονοπάτι. Για παράδειγμα μέσω της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης προκαλείται υδρόλυση των τριγλυκεριδίων των TRLs απελευθερώνοντας ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερόλη. Κατά τη μεταγευματική φάση όμως, η δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης είναι περιορισμένη λόγω των πολύ αυξημένων λιπιδίων του πλάσματος που παρατηρείται μετά από την κατανάλωση υπερθερμιδικών και υπερλιπιδαιμικών γευμάτων με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των TRLs στο πλάσμα.^[73, 78]

Τέτοιου είδους καταστάσεις έχουν παρατηρηθεί κατά καιρούς σε άτομα με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων νηστείας, σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο, διαβήτη τύπου 2 και οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας. Κατά τη μεταγευματική λιπαιμία ο καταβολισμός των VLDL είναι αργοπορημένος με αποτελέσματα οι λιποπρωτεΐνες της κυκλοφορίας να απορροφούν όλο και περισσότερα μόρια χοληστερόλης.^[79]

Συνοψίζοντας η μεταγευματική λιπαιμία αποτελεί παραδοσιακό μεταγευματικό φαινόμενο το οποίο ίσως να καθορίζεται από τη διαιτητική πρόσληψη λίπους αλλά και από τη σύσταση του σε διάφορα συστατικά.

3.1.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΑ

Η κατανάλωση ενός γεύματος φαίνεται να προκαλεί άμεσες μεταβολές στα συστατικά του πλάσματος αφού όπως παρατηρείται σε φυσιολογικά άτομα η συγκέντρωση τόσο των λιποειδών όσο και της γλυκόζης και την ινσουλίνης, αυξάνονται αυτόματα και έχουν μια μεγάλη διάρκεια μετά το πέρας των γευμάτων. Σε υγιείς ανθρώπους η ποσότητα της γλυκόζης στο αίμα παρουσιάζει συνεχείς διακυμάνσεις αλλά με μικρές αυξομειώσεις. Συνήθως 15 λεπτά μετά την κατανάλωση ενός πλούσιου σε υδατάνθρακες γεύματος η γλυκόζη φτάνει στο υψηλότερο σημείο ενώ μέσα σε μια ώρα από την κατανάλωση του πέφτει στις φυσιολογικές της τιμές.

Σε φυσιολογικές καταστάσεις (μη γευματικές) το σάκχαρο του αίματος ρυθμίζεται από τις δυο αντίθετες δράσεις ορμόνες ινσουλίνη και γλυκαγόνη. Κατά τη διάρκεια της μεταγευματικής φάσης, η υπεραυξημένη έκκριση μη εστεροποιημένων ελεύθερων λιπαρών οξέων (NEFA) προκαλεί μείωση της ευαισθησίας του μεταβολισμού της γλυκόζης καθώς και μείωση στην ανταπόκριση στην ινσουλίνη, προκαλώντας έτσι υπεργλυκαιμία. Ο μηχανισμός

που γίνεται αυτό δεν είναι ξεκάθαρος και περισσότερη έρευνα απαιτείται για την πλήρη κατανόηση αυτού του μεταβολικού δρόμου.^[80] Επίσης υποστηρίζεται ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών σχετίζεται άμεσα με τη φάση της υπεργλυκαιμίας ^[71] όπως και με διαταραχή στην έκφραση του παράγοντα πήξης VII σε διαβητικούς αλλά και σε υγιείς ανθρώπους.^[81]

Εφόσον πολλές επιδημιολογικές μελέτες σχετίζουν τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία με καρδιαγγειακές παθήσεις σε διαβητικούς αλλά και σε υγιείς είναι πολύ σημαντικό να διερευνηθούν μηχανισμοί που συμβάλλουν σε αυτή την σχέση.^[82]

3.1.3 ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η συνεχής πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών που παρατηρείται κατά τη μεταγευματική κατάσταση μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες και να επάγει φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Σε υγιή άτομα η εμφάνιση υπεργλυκαιμίας σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή υπεροξειδίου στα λευκοκύτταρα και στα μονοκύτταρα, καθώς και με αυξημένη συγκέντρωση αλλά και δραστηριότητα του πυρηνικού παράγοντα-κΒ (NF-κΒ), ο οποίος είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει τη δραστηριότητα τουλάχιστον 125 γονιδίων, τα περισσότερα από τα οποία είναι προφλεγμονώδη.^[83] Επίσης προκαλεί αύξηση σε δύο άλλους προ-φλεγμονώδεις παραγόντες μεταγραφής, του AP-1 και του EGR-1. Ο πρώτος ρυθμίζει τη μεταγραφή των μεταλοπρωτεϊνών και ο δεύτερος τη μεταγραφή του PAI-1. Ένα μικτό γεύμα από μια αλυσίδα fast-food έχει αποδειχθεί επίσης ότι προκαλεί την ενεργοποίηση του NF-κΒ που συνδέεται με την παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) σε μονοκύτταρα. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες που αποδεικνύουν ότι μετά από του στόματος ή ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης, τόσο σε φυσιολογικά άτομα όσο και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, υπάρχει μια αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και αυξημένα κυκλοφορούντα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως TNF-α, της ιντερλευκίνης 6 (IL-6) και της ιντερλευκίνης 18 (IL-18). Ένα μόνο γεύμα με υψηλά λιπαρά (> 60% λίπος) σε φυσιολογικά άτομα μπορεί να προκαλέσει την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, όπως αποδεικνύεται από την αύξηση των συγκεντρώσεων των μορίων προσκόλλησης VCAM-1 και ICAM-1, σε συνδυασμό με τις αυξημένες συγκεντρώσεις πλάσματος της IL-6 και TNF-α. Επιπλέον, το ίδιο υψηλό σε λιπαρά γεύμα μπορεί να αυξήσει τα κυκλοφορούντα επίπεδα της IL-18, μια προ-φλεγμονώδης κυττοκίνη που ενοχοποιείται ότι οδηγεί στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας και στη μείωση της κυκλοφορούσας αδιπνονεκτίνης, μια πρωτεΐνη που προέρχονται από το λιπώδη ιστό με ινσουλινοευαίσθητες και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες.^[84]

Φαίνεται επίσης ότι η συνεχής έκθεση σε γεύματα υψηλά σε συγκεκριμένα συστατικά μπορεί να προκαλέσει διαταραχές στην ομοιόσταση του μεταβολισμού «dysmetabolism» ή να την διατηρήσει. Για παράδειγμα το ιχθυέλαιο φάνηκε να μειώνει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και την απελευθέρωση θρομβοξάνης.^[85, 86]

3.1.4 ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗ^[87]

Η πορεία της αθηροσκλήρωσης σε έμφραγμα του μυοκαρδίου και αιφνίδιο καρδιακό θάνατο, τουλάχιστον εν μέρει οφείλεται στην αυξημένη δραστηριότητα του συστήματος πήξης. Αρκετές έρευνες έχουν καταδείξει το ρόλο του σχηματισμού θρόμβου στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης και των οξέων καρδιαγγειακών επεισοδίων. Είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι ο παράγοντας πήξης VII συνδέεται ανεξάρτητα με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών. Διατροφικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν αναδείξει μια σύνδεση μεταξύ των συγκεντρώσεων τριγλυκεριδίων πλάσματος και του παράγοντα πήξης VII. Τελευταία έχει αποδειχθεί σε μικρές ελεγχόμενες μελέτες ότι ο παράγοντας αυτός ενεργοποιείται κατά τη διάρκεια της μεταγευματικής λιπαιμίας τόσο σε υγιή άτομα όσο και σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Η μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία έχει βρεθεί να προηγείται της ενεργοποίησης του παράγοντα πήξης VII, καθώς και ότι ο βαθμός ενεργοποίησης του παράγοντα VII είναι ανάλογος με την αύξηση των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Ένα άλλο εντυπωσιακό χαρακτηριστικό των τριγλυκεριδίων, και ιδίως των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL), είναι η θετική συσχέτιση τους με τον αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (PAI-1). Ο PAI-1 είναι ο κυριότερος καθοριστικός παράγοντας της ινωδολυτικής δραστηριότητας στο πλάσμα. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει μία συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων PAI-1 με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Οι VLDL και η οξειδωμένη LDL μπορούν να προκαλέσουν αύξηση του PAI-1 στο πλάσμα και αυξημένη έκκριση του από ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης μια αυξημένη δραστηριότητα της δράσης της θρομβίνης παρατηρήθηκε σε διαβητικούς ασθενείς λόγω υπεργλυκαιμίας.^[88]

Δεδομένου ότι υπάρχει μεγάλη απόδειξη των σημαντικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα και της πήξης του αίματος, συμπεριλαμβανομένης της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της ινωδολύσης, φαίνεται λογικό να υποθέσει κανείς ότι μπορεί να υπάρχει μια αυξημένη τάση θρόμβωσης κατά τη μεταγευματική φάση.

3.2 ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΕ ΚΡΑΣΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Τα βραχυπρόθεσμα αποτελέσματα από την κατανάλωση κρασιού στα λιποειδή του ορού, και τις λιποπρωτεΐνες μελετήθηκε στην έρευνα των Djousse et al. Δεκατρείς υγιείς άνδρες και γυναίκες (μ.ο ηλικίας 32), με φυσιολογικό ΔΜΣ, κατανάλωσαν γεύμα υψηλό σε λιπαρά (0,8 γρ λίπους/ kg) είτε με κόκκινο κρασί (3 ml/ kg) είτε το ίδιο γεύμα με ένα ισοθερμιδικό αναψυκτικό. Η μελέτη ήταν διασταυρούμενη και τα άτομα που συμμετείχαν στην κάθε ομάδα επιλέχτηκαν τυχαία. Δείγματα αίματος ελήφθησαν στην αρχή, 2, 4 και 6 ώρες μετά το γεύμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρξε μια τάση για μεγαλύτερη αύξηση των τριγλυκεριδίων μετά το γεύμα με το κρασί, η οποία δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Οι πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες VLDL παρουσίασαν παρόμοια εξέλιξη με τα τριγλυκερίδια, αλλά και πάλι δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά. Επίσης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στον παράγοντα VII, στο ινωδογόνο, στην HDL και LDL και στην ολική χοληστερόλη μεταξύ των δύο τύπων γευμάτων.^[89] Σε μια παρόμοια μελέτη, η ενδοθηλιακή λειτουργία 10 υγιών ατόμων εξετάστηκε σε 3 διαφορετικές περιπτώσεις. Σε νηστεία, μετά από λήψη γεύματος 1050 kcal (25% λίπος) και σαν παρέμβαση του ίδιου γεύματος με ένα ποτήρι κρασί (200 ml). Η γλυκόζη αυξήθηκε σημαντικά μετά το γεύμα ή το γεύμα με το κρασί και παρέμεινε πάνω από την αρχική τιμή σε όλη τη διάρκεια των 120 λεπτών όπου και έγινε η τελευταία αιμοληψία σε σχέση με την παρέμβαση νηστείας. Ομοίως, η συγκέντρωση ινσουλίνης ήταν αμετάβλητη στην παρέμβαση όπου δεν καταναλώθηκε τίποτα, ενώ αυξήθηκε σε σημαντικά επίπεδα μετά το γεύμα και το γεύμα με το κρασί. Μετρήθηκε επίσης η βασική διάμετρος αρτηρίας και στις 3 περιπτώσεις με χορήγηση ακετυλοχολίνης, νερπινεφρίνης και νιτροπρωσσικό νάτριο και το βασικό εύρημα της μελέτης ήταν ότι η ενδοθηλιακή λειτουργία μετά το γεύμα ή το γεύμα με το κρασί δεν εμφάνισε καμία στατιστική διαφορά με τη χορήγηση και των τριών αγγειοδιασταλτικών παραγόντων σε σχέση με την κατάσταση νηστείας.^[90]

Σε μια παλαιότερη μελέτη των Hendriks και συν. μετρήθηκε σε 8 υγιείς άνδρες ο PAI-1, και ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου 1 ώρα πριν, 1, 3, 5, 9 και 13 ώρες μετά από γεύμα το οποίο περιείχε 34% λίπος με 400 ml νερό (κοντρόλ) ή γεύμα με 40 γρ αλκοόλ με τη μορφή 1000 ml μύρας, 400 ml κρασιού ή 144 ml τζιν. Τα δύο ποτήρια καταναλώνονταν πριν το γεύμα και τα άλλα μαζί με το γεύμα. Η κατανάλωση όλων των αλκοολούχων ποτών επέφερε μια μείωση στον PAI-1 από 1387 (483) IU/l στο 323 (288) IU/l 5 ώρες μετά τη λήψη του. Η δραστηριότητα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου ήταν σημαντικά υψηλότερη μετά τη λήψη αλκοόλ σε σχέση με το νερό μια, τρεις, και πέντε ώρες μετά το γεύμα. Τα επίπεδα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου αυξήθηκαν σημαντικά στις τρεις ,πέντε και εννέα ώρες μετά

την κατανάλωση αλκοόλ σε σύγκριση με το νερό. Το επόμενο πρωί, 13 ώρες μετά το γεύμα, τα επίπεδα του αντιγόνου ακόμα είχαν την τάση να είναι αυξημένα μετά το αλκοόλ.^[91]

Στη μελέτη των Williams και συν. σε 13 άνδρες με στεφανιαία νόσο εξετάστηκε η οξεία επίδραση του κόκκινου και του λευκού κρασιού με ένα ελαφρύ γεύμα σε δείκτες φλεγμονής. Οι άνδρες κατανάλωσαν 4 mL / kg (2 έως 3 ποτήρια) κόκκινο κρασί ή λευκό κρασί τυχαία, παράλληλα με ένα ελαφρύ γεύμα (2 φέτες ψωμί του τοστ με μαρμελάδα). Μια εβδομάδα μετά, οι άνδρες κατανάλωσαν ισοθερμιδικά μη αλκοολούχα ποτά (ελέγχου) με το ίδιο γεύμα. Δείγματα φλεβικού αίματος ελήφθησαν κατά την έναρξη, 1 ώρα και 6 ώρες μετά την κατανάλωση του ποτού και στις 2 παρεμβάσεις. Μετρήθηκαν τα επίπεδα ιντερλευκίνης-6 (IL-6), του μορίου κυτταρικής προσκόλλησης-1 (VCAM-1), του αγγειακού μορίου προσκόλλησης-1 (ICAM-1), το αλκοόλ στο αίμα, τα λιπίδια του πλάσματος, και η συγκέντρωση πολυφαινόλων στο πλάσμα. Ο μέσος όρος αλκοόλ στο αίμα σε μια ώρα ήταν 6,5 mmol / L και 6,9 mmol / L μετά τη λήψη κόκκινου και λευκού αντίστοιχα και σε 6 ώρες επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα. Η συγκέντρωση της IL-6 αυξήθηκε σημαντικά 6 ώρες μετά το κόκκινο κρασί κατά 56% και κατά 63% στο λευκό κρασί. Η αύξηση της IL-6 μετά τη λήψη του κρασιού ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη αύξηση μετά τη λήψη του μη αλκοολούχου ποτού. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στους υπόλοιπους δείκτες φλεγμονής ανάμεσα στην κατανάλωση λευκού ή κόκκινου κρασιού και στη λήψη του μη αλκοολούχου ποτού. Καμία στατιστική διαφορά δεν παρατηρήθηκε σε καμία χρονική στιγμή από τη λήψη των κρασιών στα επίπεδα γλυκόζης και λιπιδίων.^[92]

Σε μια μελέτη των Blanco- Colio et al με παρόμοιο σχεδιασμό δεκαέξι υγιείς εθελοντές μελετήθηκαν 3 φορές: μετά από μια μέτρια δόση, μια χαμηλή δόση, και μια χωρίς κρασί κρασί καταναλώνοντας παράλληλα ένα λιπαρό πρωινό (λίπος 56.8%). Για τους άνδρες η μέτρια δόση κρασιού υπολογίστηκε στα 20/m² g και 12/m² g η χαμηλή δόση. Οι γυναίκες έλαβαν μικρότερη δόση δηλαδή η ποσότητα για μέτρια δόση κρασιού που δόθηκε ήταν 12 g/m² και 7,2 g/m² αντιπροσώπευε τη χαμηλή δόση. Μελετήθηκε το λιπιδαιμικό προφίλ και η ενεργοποίηση του NF-kB από δείγματα αίματος που ελήφθησαν πριν 3, 6, και 9 ώρες μετά τη λήψη του κρασιού. Σε όλα τα άτομα που έλαβαν το πρωινό που ήταν αυξημένο σε λιπαρά παρατηρήθηκε αύξηση στις συγκεντρώσεις των τριγλυκερίδιων και των χυλομικρών όπως και αυξημένη ενεργοποίηση του NF-kB. Η πρόσληψη του κόκκινου κρασιού εμπόδισε τη δραστηριότητα του NF-kB, και συσχετίστηκε με περαιτέρω αύξηση των ολικών τριγλυκερίδιων σε 3 ώρες (P, 0.05, χωρίς κρασί σε σχέση με μέτρια δόση κρασιού) και στις 6 και 9 ώρες (P, 0.05, χωρίς κρασί και χαμηλό κρασί σε σχέση με μέτρια δόση), χυλομικρών σε 3 ώρες (P, 0.05, χωρίς κρασί έναντι μέτριας δόσης), και VLDL τριγλυκερίδιων σε 3 ώρες (P, 0,05, χωρίς κρασί έναντι χαμηλής και

μέτριας δόσης) και σε 6 ώρες (P, 0.05, χωρίς κρασί και χαμηλή δόση σε σχέση με μέτρια δόση). Η κατανάλωση του κόκκινου κρασιού δεν προκάλεσε παραλλαγές στη συνολική χοληστερόλη, στην LDL, και HDL χοληστερόλη.^[93]

Στην τυχαιοποιημένη μελέτη παρέμβασης των Τουσούλη και συν, 83 υγιή νεαρά άτομα χωρίς παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρωση τυχαιοποιήθηκαν σε 5 ομάδες και έλαβαν ίση ποσότητα αλκοόλ (30 γραμμάρια) με τη μορφή: κόκκινο κρασί (264 ml), λευκό κρασί (264 ml), μπύρα (633 ml), ούισκι (79 ml) ή νερό (250 ml). Δείγματα αίματος ελήφθησαν στην αρχή, 1 και 4 ώρες μετά την κατανάλωση αλκοόλ. Τα επίπεδα της IL-6, του TNF- α , της CRP, του ινωδογόνου, του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1), του παράγοντα von Willebrand (vWF) και του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) προσδιορίστηκαν κατά την έναρξη και 4 ώρες μετά την κατανάλωση αλκοόλ. Ο vWF μειώθηκε μόνο στις ομάδες που κατανάλωσαν μπύρα και κόκκινο κρασί ($p < 0.05$). Υπήρξε μια σημαντική αύξηση στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων 4 ώρες μετά από κατανάλωση αλκοόλ σε όλες τις παρεμβάσεις, ενώ δεν παρατηρήθηκε στην ολική χοληστερόλη και στα επίπεδα της HDL. Ομοίως, δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στη γλυκόζη 4 ώρες μετά την κατανάλωση οποιουδήποτε ποτού. Οι φλεγμονώδεις δείκτες παρέμειναν αμετάβλητοι σε όλες τις ομάδες. Η οξεία κατανάλωση κόκκινου κρασιού ή μπύρας, οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα του vWF. Η μείωση των επιπέδων του vWF στην ομάδα της μπύρας ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από τη μείωση που παρατηρήθηκε στην ομάδα ελέγχου ή της ομάδας που κατανάλωσε ούισκι, ενώ δεν διέφερε σημαντικά από την αλλαγή που παρατηρήθηκε στην ομάδα με το κόκκινο κρασί. Ο λόγος PAI-1/tPA παρέμεινε ανεπηρέαστος στο κόκκινο κρασί ομάδα, ενώ αυξήθηκε στην ομάδα που κατανάλωσε μπύρα.^[94]

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων επαγόμενη από διατμητική τάση καθώς και αιμοστατικοί παράγοντες εξετάστηκαν στη μελέτη των Numminen et al. Σε αυτήν 12 υγιείς άνδρες τυχαιοποιήθηκαν ως προς τις 4 φορές που εξετάστηκαν όπου τους δόθηκε α) κρασί (60 γρ αιθανόλη) με φαγητό, β) νερό (ίση ποσότητα με κρασί) με φαγητό, γ) κρασί (60 γρ αιθανόλη χωρίς φαγητό, δ) νερό (ίση ποσότητα με κρασί) χωρίς φαγητό. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων (SIPA) που προκαλείται με διατμητική τάση μειώθηκε μετά την κατανάλωση αλκοόλ, ανεξάρτητα από το αν τα άτομα ήταν σε κατάσταση νηστείας ή όχι, καθώς επίσης και μετά την πρόσληψη τροφής. Η κατανάλωση αλκοόλ ανέστειλε τη μεταγευματική αύξηση του παράγοντα von Willebrand. Τα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (PAI-1) πλάσματος και των τριγλυκεριδίων αυξήθηκαν με τη λήψη κρασιού.^[95]

Στη μελέτη των Canali et al 5 υγιείς άνδρες έλαβαν 5 ml/ kg κόκκινο κρασί σε κατάσταση νηστείας. Μελετήθηκαν δείκτες φλεγμονής όπως η ενεργοποίηση του TNF- α από

NF-kB και του AP-1, καθώς και η έκφραση επιλεγμένων γονιδίων που εμπλέκονται σε ινωδολυτικές διαδικασίες σε ανθρώπινα πρωτογενή ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα αποτελέσματα έδειξαν οι μεταβολίτες που προκύπτουν στον οργανισμό απομονωμένοι μετά από 40 λεπτά από την οξεία κατανάλωση του κρασιού, προκαλούν την μετατόπιση του NF-kB και του AP-1, στον πυρήνα. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι οι μεταβολίτες του κόκκινου κρασιού επηρεάζουν τη δραστηριότητα των διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προετοιμασία της διαμόρφωσης της φλεγμονώδους πορείας στα ενδοθηλιακά κύτταρα. ^[96]

Όπως φαίνεται από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, οι κλινικές μελέτες που εξετάζουν την επίδραση του κρασιού σε δείκτες φλεγμονής και θρόμβωσης μεταγευματικά είναι πολύ περιορισμένες. Οι περισσότερες έρευνες που έχουν διεξαχθεί μέχρι τώρα εξετάζουν το κρασί μετά από παρέμβαση κάποιων εβδομάδων, ενώ οι πληθώρα αυτών που εξετάζουν μεταγευματικά τη δράση του κρασιού στον ανθρώπινο οργανισμό αφορούν την επίδραση που ασκεί το κρασί σε δείκτες οξειδωτικού στρες.

Προηγούμενες μελέτες μας έχουν δείξει την ύπαρξη βιοδραστικών συστατικών στο κρασί με ικανότητα αναστολής της προκαλούμενης από PAF-συσσώρευσης αιμοπεταλίων, ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών και αναστολής της λιποξυγονάσης, ενός ενζύμου που παίζει σημαντικό ρόλο σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Επειδή τα δεδομένα για την μεταγευματική επίδραση του κρασιού σε δείκτες φλεγμονής και θρόμβωσης είναι περιορισμένα σκοπός της παρούσας ερευνητικής μελέτης είναι να αξιολογήσει την μεταγευματική επίδραση λευκού και κόκκινου κρασιού τα οποία είναι πλούσια σε αναστολείς του PAF σε δείκτες λιπαιμίας, γλυκαιμίας, και στην ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων σε υγιείς άνδρες φυσιολογικού βάρους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΡΑΣΙΟΥ

Μελετήθηκε η μεταγευματική δράση των κρασιών **Ambelon** (λευκός, ξηρός οίνος του 2006, 750 ml (12% vol), κύρια ποικιλία Ρομπόλα) και **Cabernet Sauvignon** (ερυθρός, ξηρός οίνος του 2006, 750 ml (13,5% vol), κύρια ποικιλία Cabernet Sauvignon). Τα κριτήρια επιλογής αυτών των δύο τύπων κρασιών βασίστηκαν σε παλαιότερες μελέτες του εργαστηρίου στις οποίες φαίνεται ότι τα κρασιά αυτά περιέχουν αναστολείς του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF) και αναστέλλουν την προκαλούμενη από αυτόν συσσώρευση πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού αιμοπεταλίων.^[43-46] Επιπλέον στα κρασιά αυτά έχουν πραγματοποιηθεί κατάλληλες εκχυλίσσεις των βιοδραστικών συστατικών τους καθώς και χημικοί προσδιορισμοί οι οποίοι έχουν αναδείξει την ύπαρξη φωσφολιποειδών, γλυκοφωσφολιποειδών αλλά και φαινολικών ενώσεων με έντονη αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική ικανότητα.^[47]

4.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ

Στη μελέτη συμμετείχαν 8 υγιείς άνδρες (ξεκίνησαν 10 αλλά είχαμε 1 drop out και ένας απορρίφθηκε λόγω ακραίων τιμών στις βιοχημικές μετρήσεις σε σχέση με τους άλλους) φυσιολογικού βάρους ($\Delta\text{ΜΣ} < 25 \text{ kg/m}^2$) ηλικίας 24-35 ετών. Τα κριτήρια για την επιλογή του δείγματος ήταν τα εξής:

- a. Να είναι υγιείς και να μη λαμβάνουν καμία φαρμακευτική αγωγή.
- b. Ηλικία 24-35 ετών
- c. Μη καπνιστές
- d. Να καταναλώνουν κρασί αλλά όχι συστηματικά.
- e. Να μην είναι επαγγελματίες αθλητές

Οι εθελοντές ενημερώθηκαν για τη φύση της μελέτης και υπέγραψαν συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής.

4.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Η μελέτη ήταν διασταυρούμενη και τυχαιοποιημένη. Κάθε εθελοντής έλαβε μέρος σε 4 πειράματα με τυχαία σειρά, όπου κατανάλωσε κάτι από τα παρακάτω: α) λευκό κρασί 4 ml/ kg σωματικού βάρους, β) κόκκινο κρασί 4 ml/ kg σωματικού βάρους, γ) υδατικό διάλυμα σε αλκοόλ 4 ml/ kg σωματικού βάρους είτε δ) 4 ml/ kg σωματικού βάρους νερό. Το πειραματικό πρωτόκολλο είχε ως εξής:

Μια εβδομάδα πριν το πείραμα γινόταν η ενημέρωση των εθελοντών. Στις υποχρεώσεις τους περιλαμβάνονταν η υιοθέτηση μιας δίαιτας χαμηλής σε φαινολικές ουσίες για 3 μέρες πριν την προγραμματισμένη συνάντηση (περίοδος wash out) και η αποφυγή κατανάλωσης κάθε είδους αλκοόλ, όπως επίσης και η αποφυγή έντονης άσκησης. Συνεπώς για 3 μέρες πριν το πείραμα οι εθελοντές διατηρούσαν μια δίαιτα χωρίς φρούτα και λαχανικά, χυμούς, καφέ, τσάι, κακάο, αλκοόλ. Επίσης οι εθελοντές δεν θα έπρεπε να έχουν κάποια φλεγμονή, λοίμωξη κλπ. ή να λάβουν κάποιο φάρμακο για μία τουλάχιστον εβδομάδα πριν το πείραμα.

Την ημέρα του πειράματος ο εθελοντής προσέρχεται το πρωί στη μεταβολική κουζίνα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου όπου και διεξάγεται η αιμοληψία. Ο κάθε εθελοντής έχει τηρήσει δωδεκάωρη νηστεία και φέρει μαζί του τα πρωινά ούρα. Αφού μετρηθεί το βάρος και το ύψος, τοποθετείται φλεβοκαθετήρας και ο εθελοντής αφήνεται να ηρεμήσει για 15 λεπτά. Στη συνέχεια γίνεται η πρώτη αιμοληψία νηστείας (-15 λεπτά). Έπειτα δίδεται στον εθελοντή πρωινό συγκεκριμένης σύστασης (πίνακας 5.1) και το ποτό του τα οποία πρέπει να καταναλωθούν μέσα σε 20 λεπτά και αμέσως γίνεται η δεύτερη αιμοληψία (0 min). Το πρωινό αποτελείται από 2 τοστ, η σύσταση των οποίων παρουσιάζεται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 4.1: Σύσταση πρωινού μελέτης

Τρόφιμο	Ποσότητα	Θερμίδες(kcal)	Υδατάνθρακες (g)	Πρωτεΐνες (g)	Λίπος (g)
Ψωμί άσπρο	4 φέτες (32 (g) x 4=128)	340	63.	8.8	5.6
τυρί gouda	40 (g)	137.6	0	9.2	11.2
Σαλάμι αέρος	54 g	222	0	12	18
βούτυρο	2 κγ (10g)	74.9	0.8	0.1	8.2
βούτυρο	2 κγ (10g)	74.9	0.8	0.1	8.2
Σύνολο		787.2	65.6	25.1	49
θερμίδες /ομάδα			256	100.4	441
%			30.8	12	53.1

σύσταση ομάδας					
-------------------	--	--	--	--	--

Εν συνεχεία ακολουθούν αιμοληψίες 30, 60 , 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 και 360 λεπτά μετά τη λήψη του ποτού και του πρωινού. Στη διάρκεια των 6 ωρών που διαρκεί η μελέτη ο εθελοντής πίνει 1 ποτήρι νερό στις 3 ώρες, ενώ ούρα παραλαμβάνονται 1, 2 και 4 ώρες μετά τη λήψη του γεύματος με το ποτό.

4.4 ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΗ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΩΝ

Κατά τα μεσοδιαστήματα των αιμοληψιών έγινε συμπλήρωση ερωτηματολογίων για το γενικό ιστορικό των εθελοντών, τη φυσική δραστηριότητα, και τη συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων. Επιπλέον, σε κάθε πείραμα λαμβανόταν ανάκληση εικοσιτετραώρου για 3 μέρες πριν το πείραμα έτσι ώστε να ελεγχθεί η συμμόρφωση των εθελοντών με τους διαιτητικούς περιορισμούς τις περιόδους wash out.

Αναλυτικότερα, όσον αφορά στη συμπλήρωση του γενικού ιστορικού ζητήθηκαν στοιχεία για την ηλικία, το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο (χρόνια εκπαίδευσης, επάγγελμα), τις καπνιστικές συνήθειες, την ύπαρξη ασθενειών ή μη φυσιολογικών βιοχημικών παραμέτρων και τη λήψη φαρμάκων ή συμπληρωμάτων διατροφής.

Η φυσική δραστηριότητα αξιολογήθηκε με βάση την ένταση και τη διάρκειά της. Η ένταση προσδιορίστηκε με τη βοήθεια των μεταβολικών ισοδυνάμων, γνωστών στη βιβλιογραφία ως MET (Metabolic Equivalents).

Οι διατροφικές συνήθειες των εθελοντών αξιολογήθηκαν με τη βοήθεια ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Επιπλέον δόθηκε στους εθελοντές και ένα ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης αλκοόλ με σκοπό να εξεταστεί κατά πόσο οι εθελοντές ήταν συστηματικοί πότες.

4.5. ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος προορίζονται για τον προσδιορισμό της γλυκόζης και την αξιολόγηση λιπιδαιμικών δεικτών που περιλαμβάνουν τα τριγλυκερίδια, την ολική χοληστερόλη, την LDL χοληστερόλη και την HDL χοληστερόλη, όπως επίσης και για την δοκιμασία συσσώρευσης αιμοπεταλίων επαγόμενη από PAF. Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν 3 ml αίματος σε γυάλινα σωληνάκια (BD Vacutainer Systems, Becton Dickinson) χωρίς

αντιπηκτικό για την παραλαβή του ορού. Το αίμα αφήνεται να πήξει σε θερμοκρασία δωματίου για 60 min και εν συνεχεία ακολουθεί φυγοκέντρωση (φυγόκεντρος centrifuge 5810R) στα 1500 g για 10 min σε θερμοκρασία 20 βαθμών και παραλαβή του υπερκείμενου. Ο ορός τοποθετήθηκε σε σωλήνες τύπου erpendorf και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -80°C .

Για τη δοκιμασία συσσώρευσης των αιμοπεταλίων (όπου και αξιολογήθηκαν ως δείκτες ενεργοποίησης του μηχανισμού πήξης) συλλέχθηκαν άλλα 10 ml αίματος σε αντιπηκτικό διάλυμα κιτρικών ACD. Η δοκιμή συσσώρευσης των αιμοπεταλίων έγινε μόλις λήφθηκε το αίμα δεδομένου ότι τα αιμοπετάλια καταστρέφονται με την πάροδο του χρόνου.

4.6 ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

4.6.1 Μέτρηση γλυκόζης:

➤ Όργανα:

- φωτόμετρο Elisa reader Tecan Sunrise Remote F039300
- κλίβανος επώασης memmert

➤ Διαλύματα:

Προπαρασκευασμένο αντιδραστήριο kit για τον προσδιορισμό γλυκόζης της biosis που περιέχει:

R1: ρυθμιστικό διάλυμα

R2: ένζυμα και συμπαράγοντες

R1 + R2: διάλυμα εργασίας

R3: πρότυπο διάλυμα γλυκόζης 100 mg/dL

➤ Αρχή μεθόδου:

Η γλυκόζη μετρήθηκε σε δείγματα ορού με τη φασματοφωτομετρική μέθοδο της οξειδάσης της γλυκόζης. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα φαίνονται παρακάτω:



(ένζυμο: GOD, οξειδάση της γλυκόζης)



(ένζυμο: POD, υπεροξειδάση)

➤ Αναλυτική πορεία:

Σε πλάκα 96 πηγαδιών (96 well plate) τοποθετείται νερό και δείγμα ορού ή πρότυπο διάλυμα γλυκόζης, έτσι ώστε ο τελικός όγκος να είναι 35 μl . Η τοποθέτηση των προτύπων και των δειγμάτων γίνεται ει διπλούν. Στη συνέχεια προστίθενται 200 μl διαλύματος εργασίας (R1 + R2) ανά πηγάδι, πραγματοποιείται ανάδευση και τέλος επώαση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 37 $^{\circ}\text{C}$. Μετά το πέρας της επώασης πραγματοποιείται φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης γλυκόζης γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη γλυκόζης.

4.6.2 Μέτρηση τριγλυκεριδίων:

➤ Όργανα:

- φωτόμετρο Elisa reader Tecan Sunrise Remote F039300
- κλίβανος επώασης memmert

➤ Διαλύματα:

Προπαρασκευασμένο αντιδραστήριο kit για τον προσδιορισμό τριγλυκεριδίων (SGMitalia) που περιέχει:

R1: ρυθμιστικό διάλυμα

R2: ένζυμα και συμπαράγοντες

R1 + R2: διάλυμα εργασίας

R3: πρότυπο διάλυμα τριγλυκεριδίων 200 mg/dl

➤ Αρχή μεθόδου:

τριγλυκερίδια $\rightleftharpoons$ λιπαρά οξέα + γλυκερόλη (1)
(ένζυμα: λιπάσες)

γλυκερόλη και ATP $\rightleftharpoons$ γλυκερο-3- φωσφορικό + ADP (2)
(ένζυμο: γλυκεροκινάση)

γλυκερο-3- φωσφορικό $\rightleftharpoons$ προϊόν και H_2O_2 (3)
(ένζυμο: GPO)

H_2O_2 + αμινοφαιναζόνη + φαινολικό παράγωγο $\rightleftharpoons$ έγχρωμο προϊόν (4)
(ένζυμο: υπεροξειδάση)

➤ Αναλυτική πορεία:

Σε πλάκα 96 πηγαδιών (96 well plate) τοποθετείται νερό και δείγμα ορού ή πρότυπο διάλυμα τριγλυκεριδίων, έτσι ώστε ο τελικός όγκος να είναι 40 μl . Η τοποθέτηση των προτύπων και των δειγμάτων γίνεται ει διπλούν. Στη συνέχεια προστίθενται 200 μl διαλύματος εργασίας (R1 + R2) ανά πηγάδι, πραγματοποιείται ανάδευση και τέλος επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία 37 $^{\circ}\text{C}$.

Μετά το πέρας της επώασης πραγματοποιείται φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη τριγλυκεριδίων.

4.6.3 Μέτρηση ολικής χοληστερόλης:

➤ Όργανα:

- φωτόμετρο Elisa reader Tecan Sunrise Remote F039300
- κλίβανος επώασης memmert

➤ Διαλύματα:

Προπαρασκευασμένο αντιδραστήριο kit για τον προσδιορισμό χοληστερόλης (Cesan) που περιέχει:

R1: ρυθμιστικό διάλυμα

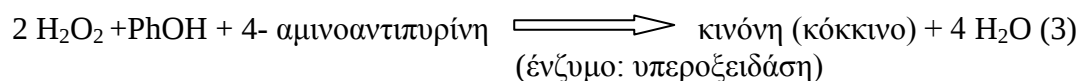
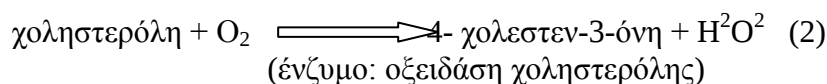
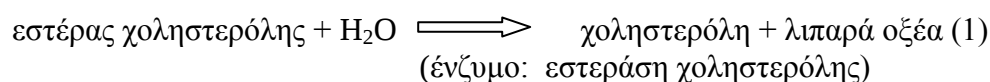
R2: ένζυμα και συμπαράγοντες

R1 + R2: διάλυμα εργασίας

R3: πρότυπο διάλυμα χοληστερόλης 200 mg/dl

➤ Αρχή μεθόδου:

Ο προσδιορισμός της ολικής χοληστερόλης του πλάσματος γίνεται με τη μέθοδο CHOD-PAP που βασίζεται στη φωτομέτρηση στα 510 nm του τελικού προϊόντος από τις παρακάτω ενζυμικές αντιδράσεις:



➤ Αναλυτική πορεία:

Σε πλάκα 96 πηγαδιών (96 well plate) τοποθετείται νερό και δείγμα ορού ή πρότυπο διάλυμα χοληστερόλης, έτσι ώστε ο τελικός όγκος να είναι 40 μl. Η τοποθέτηση των προτύπων και των δειγμάτων γίνεται εις διπλούν. Στη συνέχεια προστίθενται 200 μl διαλύματος εργασίας (R1 + R2) ανά πηγάδι, πραγματοποιείται ανάδευση και τέλος επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία 37 °C.

Μετά το πέρας της επώασης πραγματοποιείται φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης χοληστερόλης γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη.

4.6.4 Μέτρηση HDL χοληστερόλης

➤ Όργανα:

- φωτόμετρο Elisa reader Tecan Sunrise Remote F039300
- φυγόκεντροs eppendorf centrifuge 5417 C
- κλίβανος επώασης memmert

➤ Διαλύματα:

- Προπαρασκευασμένο αντιδραστήριο kit για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης όπως αναφέρεται στον προσδιορισμό ολικής χοληστερόλης (Cesan)
- Αντιδραστήριο καταβύθισης (Biosis) που περιέχει φωσφοβολφραμικό οξύ.

➤ Αρχή μεθόδου:

Ο προσδιορισμός της HDL χοληστερόλης βασίζεται στην καταβύθιση των χυλομικρών, των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL) και της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL) όταν προστίθενται στο δείγμα φωσφοβολφραμικό οξύ και ιόντα μαγνησίου. Με φυγοκέντρηση λαμβάνεται στο υπερκείμενο μόνο οι υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL), όπου προσδιορίζεται η χοληστερόλη όπως αναφέρεται στη μέθοδο για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης.

➤ Αναλυτική πορεία:

Σε πλαστικούς σωλήνες eppendorfs τοποθετούνται 50 μl δείγματος και 100 μl αντιδραστηρίου καταβύθισης. Γίνεται ανάδευση και το διάλυμα αφήνεται για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως το δείγμα φυγοκεντρείται για 10 λεπτά σε φυγόκεντρο στις 10000 rpm. Μετά τη φυγοκέντρηση λαμβάνεται το υπερκείμενο και προσδιορίζεται η χοληστερόλη με τη μέθοδο CHOD- PAP όπως παρουσιάστηκε παραπάνω. Συγκεκριμένα προστίθενται 20 μl δείγματος ή πρότυπου διαλύματος, 20 μl H₂O και 200 μl διαλύματος εργασίας. Στη συνέχεια πραγματοποιείται ανάδευση και τέλος επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία 37 °C. Μετά το πέρας της επώασης πραγματοποιείται φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης HDL γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη.

4.6.5 Μέτρηση LDL χοληστερόλης:

Ο υπολογισμός της LDL χοληστερόλης έγινε με βάση τον τύπο του Friedewald: $LDL = Total\ CHOL - HDL - TG/5$ (mg/dL).^[97]

4.6.6 Μέτρηση συσσωρευσης αιμοπεταλίων επαγόμενη από PAF:

➤ Όργανα:

- φυγόκεντρος Hermle z320
- θερμοστατούμενο υδατόλουτρο στους 37 °C
- φωτόμετρο Bausch- Lomb
- συσσωρευματομέτρο Chrono- Log

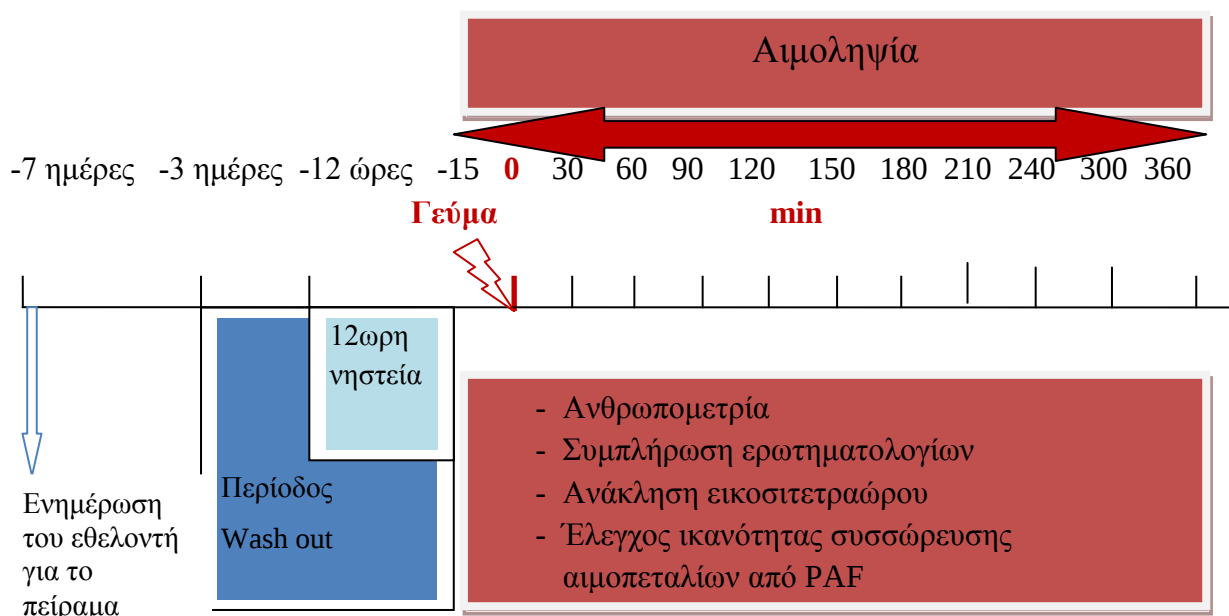
➤ Διαλύματα:

- Αντιπηκτικό διάλυμα ACD: σε 1000 ml νερού διαλύονται 13,65 gr κιτρικού οξέος, 25 gr κιτρικού νατρίου και 20 gr δεξτρόζης
- Διάλυμα εργασίας βόειας αλβουμίνης ορού BSA: 2,5 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων διαλύεται σε 1 ml φυσιολογικού ορού και φυλάσσεται στους -20 °C. Διαλύματα εργασίας PAF συγκεντρώσεων 10^{-4} M, 10^{-6} M και 10^{-7} M σε διάλυμα εργασίας BSA. Σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα παραλαμβάνονται 1 ml από το διάλυμα φύλαξης PAF συγκέντρωσης 10^{-4} M τα οποία εξατμίζονται έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου και αναδιαλύονται σε 50 μl διαλύματος BSA. Μετά από παραμονή 10 λεπτών από το διάλυμα αυτό ετοιμάζονται και οι υπόλοιπες συγκεντρώσεις PAF ως εξής: 90 μl BSA σε 10 μl PAF 10^{-4} για να προκύψει διάλυμα PAF 10^{-5} και ακολούθως 90 μl BSA σε 10 μl PAF 10^{-5} για να προκύψει διάλυμα PAF 10^{-6} και ακολούθως 90 μl BSA σε 10 μl PAF 10^{-6} για να προκύψει διάλυμα PAF 10^{-7}

➤ Αναλυτική πορεία:

Αφού ληφθεί το αίμα σε σωλήνα που περιέχει το αντιπηκτικό ACD σε αναλογία αίμα/ αντιπηκτικό 9/1 και γίνει απαλή ανάδευση του σωλήνα με προσοχή να μην αφρίσει, ακολουθεί φυγοκέντρηση στα 173 g για 8 λεπτά στους 24 °C. Στη συνέχεια γίνεται μεταφορά του υπερκείμενου (Platelet- rich plasma, PRP) σε πλαστικό σωλήνα και ακολουθεί δεύτερη

φυγοκέντρωση στα 1120 g για 20 λεπτά στους 24 °C. Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης γίνεται μεταφορά του υπερκείμενου (Platelet- Poor plasma, PPP) το οποίο είναι φτωχό σε αιμοπετάλια σε πλαστικό σωλήνα με σκοπό να χρησιμοποιηθεί για την ρύθμιση του αριθμού των αιμοπεταλίων στο PRP. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων στο PRP ρυθμίζεται στα 500 000 cells/μl με προσθήκη PPP από τον ίδιο τον εθελοντή. Στη συνέχεια σε γυάλινες κυψελίδες συσσωρευματομέτρου των 0,5 ml προστίθενται 250 μl από το PRP και μικρός μαγνητικός αναδευτήρας που περιστρέφεται με 1200 στροφές το λεπτό. Ακολουθεί επώαση για 15 λεπτά σε θερμοστατούμενο υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C. Στην συνέχεια στη κυψελίδα με το εναιώρημα των αιμοπεταλίων προστίθεται μικρός μαγνητικός αναδευτήρας (1200 στροφές το λεπτό) και τοποθετείται στην ειδική θερμοστατούμενη κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου. Στη συνέχεια προστίθενται διάφορες ποσότητες του συσσωρευτικού παράγοντα PAF και καταγράφεται η καμπύλη συσσώρευσης, ως αύξηση της διαπερατότητας. Εντοπίζεται η μέγιστη αντιστρεπτή συσσώρευση και η ελάχιστη μη αντιστρεπτή συσσώρευση των αιμοπεταλίων και στη συνέχεια προστίθενται ποσότητες PAF τέτοιες ώστε να πετυχαίνεται η συσσώρευση μεταξύ 50 και 80 % της μέγιστης αντιστρεπτής αλλά και μεταξύ 20 και 50% της μέγιστης αντιστρεπτής συσσώρευσης. Στις συγκεντρώσεις του PAF που προκαλείται συσσώρευση από 20-80% της μέγιστης αντιστρεπτής υπάρχει γραμμική απόκριση οπότε και υπολογίζεται το EC₅₀ με το οποίο και εκφράζονται τα αποτελέσματα.



Σχήμα 4.1: Συνοπτική παρουσίαση του πειραματικού πρωτοκόλλου

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα SPSS 17.0. Οι διαφορές για τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και για τις αρχικές τιμές των δεικτών πριν από κάθε παρέμβαση αξιολογήθηκαν με τη μέθοδο one way Anova. Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις της γλυκόζης, των τριγλυκεριδίων, της ολικής χοληστερόλης, της HDL και LDL χοληστερόλης και η ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων αξιολογήθηκαν με τη μέθοδο των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το 5% ($p < 0.05$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Από τους 10 εθελοντές ένας αποχώρησε από την μελέτη πριν ολοκληρώσει τις 4 παρεμβάσεις και ένας αποκλείστηκε από την στατιστική επεξεργασία λόγω ακραίων τιμών σε σχέση με το υπόλοιπο δείγμα. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών παρουσιάζονται στον πίνακα 5.1. Το δείγμα της μελέτης λοιπόν, αποτελούνταν από 8 υγιείς άνδρες ηλικίας 30 ± 3 ετών, μη καπνιστές και φυσιολογικού ΔΜΣ (24 ± 2 kg/m²).

Πίνακας 5.1: Χαρακτηριστικά εθελοντών

N= 8 υγιείς άνδρες		
	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
Ηλικία (έτη)	30,2	3,5
Βάρος (kg)	79,3	9,3
Ύψος (m)	1,81	0,06
ΔΜΣ (kg/m ²)	24,2	2,23

5.2 ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΚΑΘΕ ΠΕΡΕΜΒΑΣΗ

Στον πίνακα 5.2 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των βιοχημικών αναλύσεων της γλυκόζης, των τριγλυκεριδίων και των λιπιδίων του αίματος των εθελοντών πριν την κατανάλωση του γεύματος με το ποτό της κάθε παρέμβασης. Παρόμοια εμφανίζεται και η μέγιστη συσσώρευση των αιμοπεταλίων που προκαλείται από PAF εκφρασμένο σε συγκέντρωση 10^{-6} M. Όπως παρατηρούμε όλες οι τιμές των εξεταζόμενων βιοχημικών δεικτών πριν την κάθε παρέμβαση δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$).

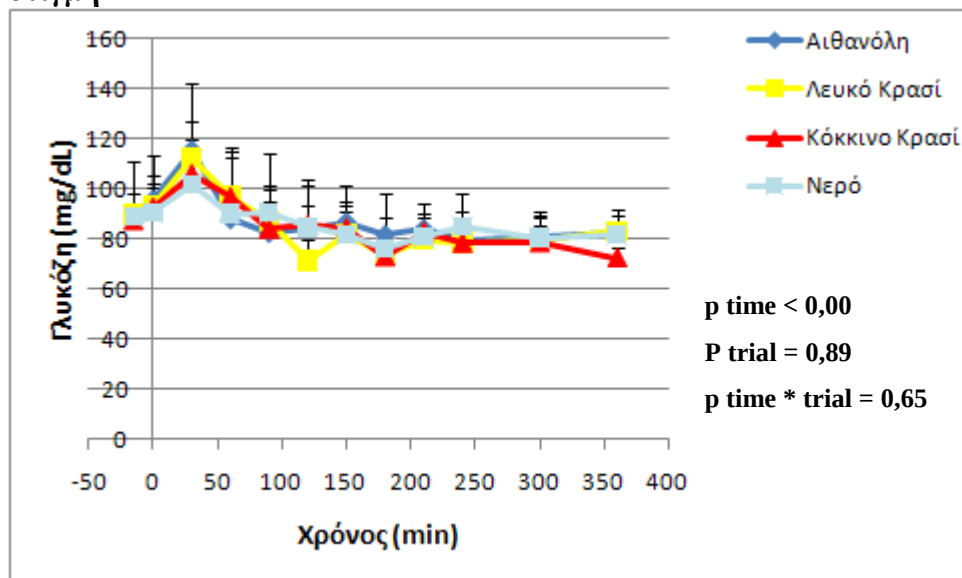
Πίνακας 5.2: Βιοχημικά χαρακτηριστικά των 8 εθελοντών στο baseline της κάθε παρέμβασης.

	μέσος όρος ± τυπική απόκλιση				P
	Παρέμβαση με Αιθανόλη	Παρέμβαση με Ambelon	Παρέμβαση με Cabernet Sauvignon	Παρέμβαση με Νερό	
Γλυκόζη (mg/dL)	90,6±7,7	89,9±21,0	87,4±6,8	88,9±3,2	0,96
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	66,3±36,9	48,9±23,5	58,1±40,7	29,3±10,7	0,23
Χοληστερόλη (mg/dL)	196,8± 41,0	182,8±31,2	187,4±34,2	194,1±43,7	0,87
HDL-C (mg/dL)	40,5±9,4	39,8±7,3	39,6±7,9	41,3±11,3	0,98
LDL-C (mg/dL)	143,0±37, 1	133,2±35,9	136,2±28,7	147,0±43,9	0,89
EC₅₀ PAF (10⁻⁶M)	0,11±0,10	0,18±0,15	0,12±0,05	0,05±0,05	0,17

5.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗ ΓΛΥΚΟΖΗ

Όπως παρατηρούμε από το διάγραμμα 5.1 οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης αυξάνονται μετά την χρονική στιγμή 0 οπότε και καταναλώθηκε το πρωινό, ενώ φτάνουν στο υψηλότερο σημείο 30 λεπτά μετά. Σταδιακά πέφτουν στα αρχικά επίπεδα νηστείας όπως είναι αναμενόμενο. Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα δε διέφερε μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων ($p=0,89$), όπως επίσης δεν υπήρχε και στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των παρεμβάσεων και του χρόνου της δοκιμασίας ($p=0,65$). Μόνο την χρονική στιγμή 120 λεπτά μετά το γεύμα, παρατηρείται ότι με την δοκιμασία της κατανάλωσης του λευκού κρασιού διαφαίνεται μια τάση για χαμηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης σε σχέση με το νερό ($p=0,08$).

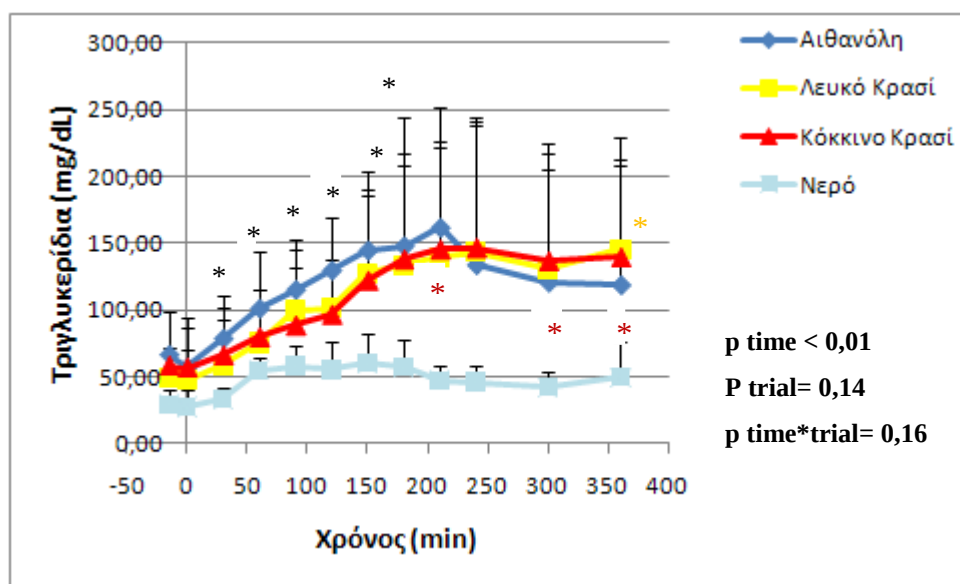
Διάγραμμα 5.1: Συγκέντρωση γλυκόζης αίματος για τις 4 παρεμβάσεις σε κάθε χρονική στιγμή



5.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΑ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ

Στο διάγραμμα 5.2 παρατηρούμε το μέσο όρο των συγκεντρώσεων των τριγλυκεριδίων των εθελοντών για όλες τις χρονικές στιγμές που εξετάσαμε στις τέσσερις παρεμβάσεις. Όπως παρατηρούμε για τη μορφή του διαγράμματος οι τιμές των τριγλυκεριδίων αυξάνονται σταδιακά μετά τη λήψη του πρωινού φτάνοντας στο υψηλότερο σημείο τους στα 180 λεπτά. Η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στο αίμα δε διέφερε μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων ($p=0,14$), όπως επίσης δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των παρεμβάσεων και του χρόνου της δοκιμασίας ($p=0,16$). Στις επιμέρους συσχετίσεις υπάρχει μια στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση της παρέμβασης με την αιθανόλη και το νερό ($p=0,03$) καθώς και της παρέμβασης του κόκκινου κρασιού με το νερό ($p=0,05$). Για τις επιμέρους χρονικές στιγμές στην παρέμβαση με την αιθανόλη παρατηρούμε στατιστικά σημαντική διαφορά στα 30 λεπτά ($p=0,03$), στα 60 λεπτά ($p=0,02$), στα 90 λεπτά ($p=0,02$), στα 150 λεπτά ($p=0,04$), στα 180 λεπτά ($p=0,04$), όπως και στα 210 λεπτά ($p=0,02$) σε σχέση με το νερό. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της παρέμβασης με το κόκκινο κρασί και το νερό ήταν στα 210 λεπτά ($p=0,04$), στα 300 λεπτά ($p=0,04$), και στα 360 λεπτά ($p=0,04$). Επίσης παρατηρούμε και μια στατιστικά σημαντική αύξηση των τριγλυκεριδίων μετά την κατανάλωση του λευκού κρασιού στα 360 λεπτά σε σχέση με το νερό ($p=0,03$).

Διάγραμμα 5.2: Συγκέντρωση τριγλυκεριδίων για τις 4 παρεμβάσεις σε κάθε χρονική στιγμή



*: Στατιστικά σημαντική επίδραση της κατανάλωσης αιθανόλης σε σχέση με το νερό. ($p < 0,05$)

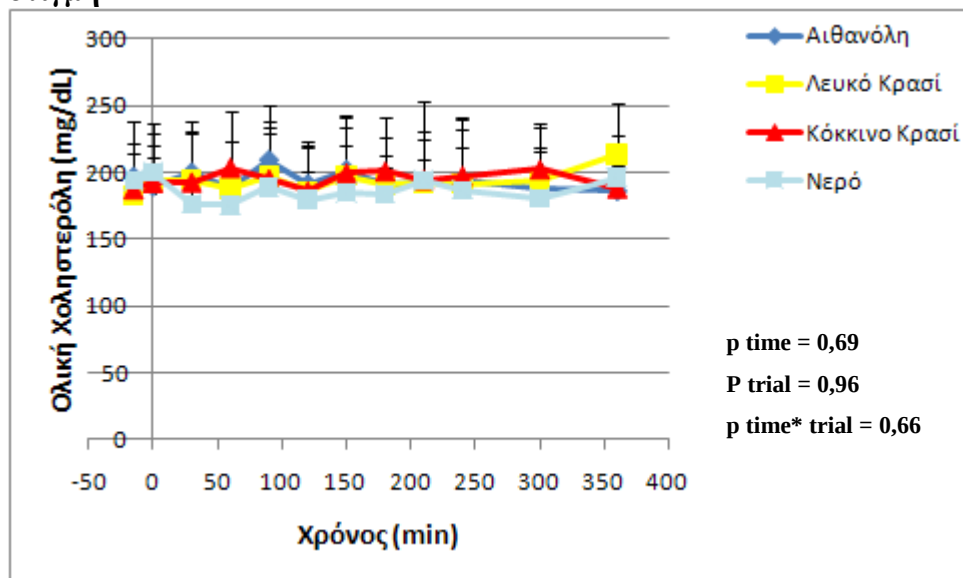
*: Στατιστικά σημαντική επίδραση της κατανάλωσης του **Ambelon** σε σχέση με το νερό. ($p < 0,05$)

*: Στατιστικά σημαντική επίδραση της κατανάλωσης **Cabernet Sauvignon** σε σχέση με το νερό. ($p < 0,05$)

5.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗΝ ΟΛΙΚΗ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Στο διάγραμμα 5.3 παρατηρούμε τις συγκεντρώσεις της ολικής χοληστερόλης για την κάθε παρέμβαση σε σχέση με το χρόνο όπου και δεν εντοπίζουμε κάποια σημαντική διακύμανση μετά τη λήψη πρωινού. Η συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης δε διέφερε μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων ($p=0,96$), όπως επίσης δεν υπήρχε και στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της δοκιμασίας και των συγκεντρώσεων ($p=0,66$). Επίσης δεν παρατηρούμε διαφοροποιήσεις για καμία χρονική στιγμή σε καμία παρέμβαση.

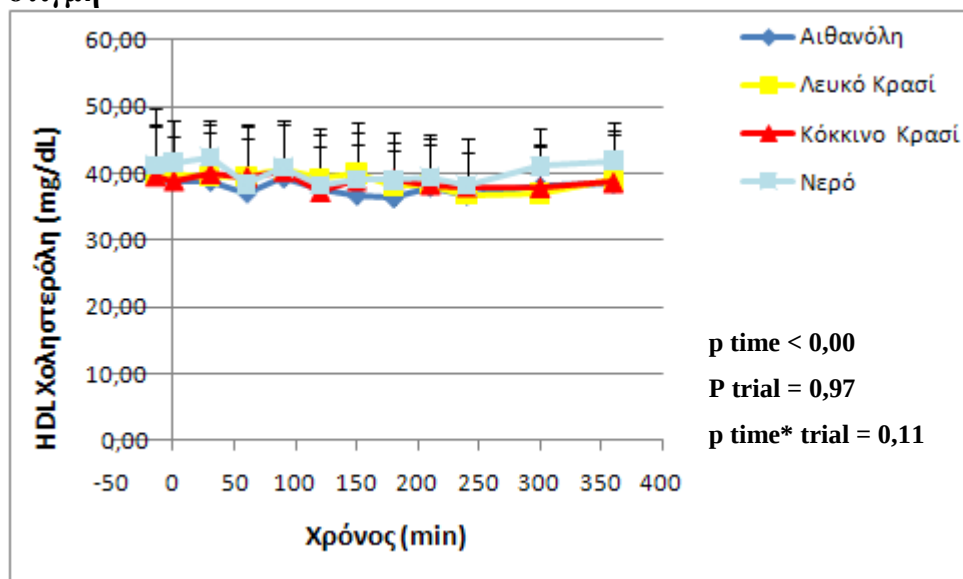
Διάγραμμα 5.3: Συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης για τις 4 παρεμβάσεις σε κάθε χρονική στιγμή



5.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗΝ HDL ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Στο διάγραμμα 5.4 παρατηρούμε ότι οι τιμές της HDL χοληστερόλης δεν παρουσιάζει διακυμάνσεις μετά τη λήψη πρωινού. Η συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης δε διέφερε μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων ($p=0,97$), όπως επίσης δεν υπήρχε και στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της δοκιμασίας και των συγκεντρώσεων ($p=0,11$). Επίσης δεν παρατηρούμε διαφοροποιήσεις για καμία χρονική στιγμή σε καμία παρέμβαση.

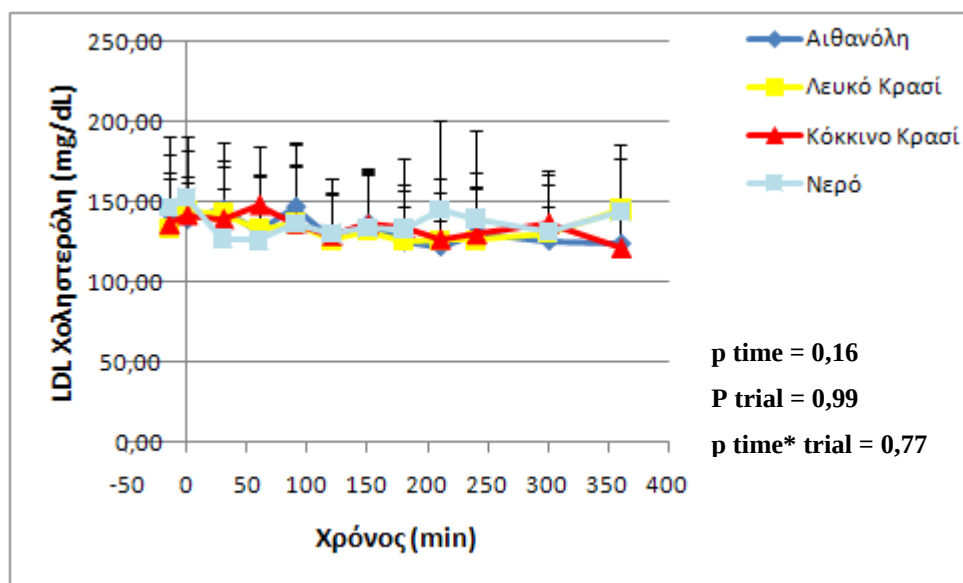
Διάγραμμα 5.4: Συγκέντρωση HDLχοληστερόλης για τις 4 παρεμβάσεις σε κάθε χρονική στιγμή



5.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗΝ LDL ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Στο διάγραμμα 5.5 παρατηρούμε ότι οι τιμές της LDL χοληστερόλης δεν παρουσιάζουν διακυμάνσεις μετά τη λήψη πρωινού. Η συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης δε διέφερε μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων ($p=0,99$), όπως επίσης δεν υπήρχε και στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της δοκιμασίας και των συγκεντρώσεων ($p=0,77$). Επίσης δεν παρατηρούμε διαφοροποιήσεις για καμία χρονική στιγμή σε καμία παρέμβαση.

Διάγραμμα 5.5: Συγκέντρωση LDL χοληστερόλης για τις 4 παρεμβάσεις σε κάθε χρονική στιγμή

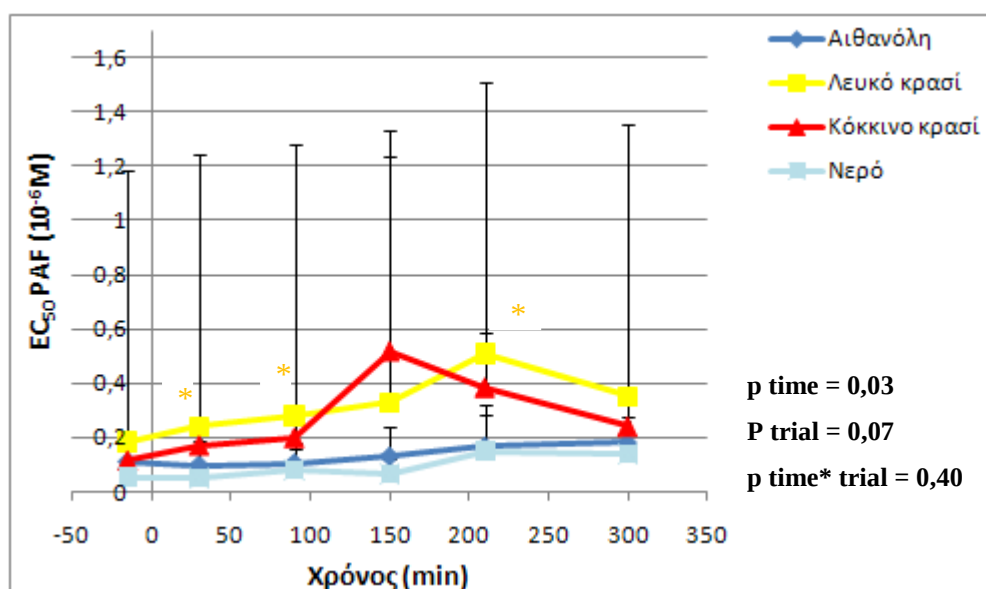


5.8 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΤΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Από το διάγραμμα 5.6 παρατηρούμε ότι μετά την λήψη του πρωινού αυξάνεται το EC50 του PAF, δηλαδή μειώνεται η ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, και η μέγιστη αναστολή επιτυγχάνεται μεταξύ στα 150 και 200 λεπτά στις 2 παρεμβάσεις που χρησιμοποιήθηκαν τα 2 κρασιά, ενώ δεν παρατηρούμε διαφοροποίηση για την παρέμβαση με το νερό και την αιθανόλη. Συνολικά οι τέσσερις παρεμβάσεις μεταξύ τους παρουσίασαν τάση ώστε να διαφοροποιηθούν ($p=0,07$) η οποία όμως λόγω μικρού αριθμού εθελοντών δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Στις επιμέρους συγκρίσεις αυτό που παρατηρούμε είναι ότι η παρέμβαση με το λευκό κρασί παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά με το νερό ($p=0,03$). Συγκεκριμένα για τις χρονικές στιγμές 30 ($p=0,02$), 90 ($p=0,02$) και 210 ($p=0,03$) λεπτών το

λευκό κρασί παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων επαγόμενη από PAF, σε σχέση με το νερό. Επίσης η παρέμβαση με το κόκκινο κρασί τη χρονική στιγμή 150 λεπτά εμφάνισε μια τάση για διαφοροποίηση όσον αφορά στη μείωση της ικανότητας των αιμοπεταλίων να συσσωρεύονται από τον PAF σε σχέση με το νερό ($p=0,08$).

Διάγραμμα 5.6: Μεταγευματική ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων επαγόμενη από PAF για τις 4 παρεμβάσεις.



*: Στατιστικά σημαντική επίδραση της κατανάλωσης του **Ambelon** σε σχέση με το νερό. ($p < 0,05$)

Z. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα εξακολουθούν να είναι η κύρια αιτία θανάτου στις χώρες του Δυτικού κόσμου, με τις κύριες εκδηλώσεις τους να είναι η καρδιακή προσβολή και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια. Οι εκδηλώσεις αυτές αντιπροσωπεύουν την κλινική έκβαση της αθηροσκλήρωσης που είναι μια συστηματική αγγειακή διαδικασία η οποία μπορεί να θεωρηθεί ως ένα τύπος χρόνιας φλεγμονής. Πληθώρα μελετών υποστηρίζουν ότι τόσο η φλεγμονή όσο και η θρόμβωση συνθέτουν τους σημαντικότερους μηχανισμούς για την εγκατάσταση και την μετέπειτα εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης. ^[1, 2, 5]

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF) θεωρείται πολύ σημαντικός μεσολαβητής της φλεγμονής. Παράγεται από διάφορα κύτταρα όπως είναι τα αιμοπετάλια, τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα αφρώδη κύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης κύτταρα πολλών ιστών μπορούν να συνθέσουν PAF είτε σε φυσιολογικές καταστάσεις είτε μετά την ενεργοποίησή τους. Η εμπλοκή του PAF στη φλεγμονή προέρχεται από την ικανότητά του να διεγείρει τα φλεγμονώδη κύτταρα, να μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις κυττάρου- κυττάρου και στην ενδοκυτταρική σήμανση. Νεότερα δεδομένα υποδεικνύουν πως ο PAF φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο σε θρομβωτικές επιπλοκές, προκαλεί την απελευθέρωση ενεργών ριζών, συμβάλει στην οξείδωση της LDL και προκαλεί συσσώρευση αιμοπεταλίων ^[12]

Επιδημιολογικά στοιχεία παρουσιάζουν χαμηλό το ποσοστό εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε πληθυσμούς που συνηθίζουν να καταναλώνουν μετριοπαθή ποσότητα κρασιού και μάλιστα για αυτό το λόγο το κρασί κατέχει ειδική θέση στο Μεσογειακό πρότυπο διαίτας. Νεότερα δεδομένα προτείνουν ότι οι ευεργετικές δράσεις του κρασιού στην υγεία δεν οφείλονται αποκλειστικά στο αλκοόλ αλλά και στα βιολογικά δραστικά συστατικά του όπως τα λιποειδή και οι φαινολικές ενώσεις. ^[18, 21, 25, 50]

Από τότε αρκετές μελέτες παρέμβασης προσπάθησαν να αξιολογήσουν πιθανούς μηχανισμούς μέσω των οποίων το κρασί φαίνεται να προστατεύει τον ανθρώπινο οργανισμό, εστιάζοντας στην αντιφλεγμονώδη, στην αντι-οξειδωτική και αντιθρομβωτική δράση, μέσω της οποίας δίνει μια ασπίδα προστασίας έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Συνοψίζοντας τη μέχρι τώρα βιβλιογραφία, έχει φανεί ότι η αιθανόλη οδηγεί στην αύξηση της HDL χοληστερόλης, μειώνει την συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων και τη θρόμβωση και συγκεκριμένα έχει βρεθεί ότι μέτρια κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται να αυξάνει τη δραστηριότητα του tPA, και να μειώνει την παραγωγή ινωδογόνου και αντιθρομβίνης. Οι φαινολικές ενώσεις

από την άλλη, έχουν αντιοξειδωτικές δράσεις, συμβάλουν στην αύξηση της παραγωγής NO από το ενδοθήλιο, περιορίζουν τη δράση του TNF, επιδρούν στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέως μειώνοντας την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και τη σύνθεση προφλεγμονωδών και προθρομβωτικών παραγόντων και αναστέλλουν τη δράση διάφορων συσσωρευτικών παραγόντων όπως το ADP και ο PAF. (29, 30, 62-70, 45-46)

Οι περισσότεροι άνθρωποι στην εποχή μας, το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της ημέρας βρίσκονται σε μια συνεχή μεταγευματική κατάσταση, η οποία φαίνεται να παίζει ρόλο σε πολλές φλεγμονώδεις διαδικασίες. Παρόλα αυτά λίγες είναι οι μελέτες που εξέτασαν την επίδραση που ασκεί η οξεία κατανάλωση του κρασιού σε δείκτες που σχετίζονται με τη φλεγμονή και τη θρόμβωση. Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή προσπάθησε να αξιολογήσει τη μεταγευματική επίδραση δύο τύπων κρασιών του Ambelon και του Cabernet Sauvignon σε κλασικούς δείκτες όπως είναι η γλυκόζη, η χοληστερόλη, η HDL και η LDL χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια αλλά και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων επαγόμενη από PAF. Οι δύο αυτές ποικιλίες επιλέχθηκαν με βάση προηγούμενες *in vitro* μελέτες του εργαστηρίου όπου πιστοποιήθηκε η ύπαρξη βιοδραστικών συστατικών (φαινολικές ενώσεις, φωσφολιποειδή και φωσφο-γλυκο-λιποειδή) που οδηγούν σε αναστολή της προκαλούμενης από PAF συσσώρευσης σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού. (71, 43-47)

Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στη μεταγευματική υπεργλυκαιμία.

Οι τέσσερις παρεμβάσεις μεταξύ τους δεν επέφεραν κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της γλυκόζης μεταγευματικά. Δηλαδή και οι δύο τύποι κρασιών δε φάνηκε να παρουσιάζουν κάποια υπογλυκαιμική τάση. Μετά τα 60 λεπτά από την κατανάλωση πρωινού η συγκέντρωση της γλυκόζης επανήλθε στα φυσιολογικά της επίπεδα τα οποία δεν είχαν κάποια σημαντική διαφορά και για τις τέσσερις παρεμβάσεις. Μόνο την χρονική στιγμή των 120 λεπτών μετά το γεύμα, φάνηκε μετά την δοκιμασία της κατανάλωσης του λευκού κρασιού μια τάση για χαμηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης σε σχέση με το νερό ($p=0,08$). Παρόμοια αποτελέσματα για τη συγκέντρωση της γλυκόζης παρατηρούμε στη μελέτη των Djousse et al, όπου μετά την κατανάλωση πρωινού με κόκκινο κρασί η γλυκόζη αυξήθηκε και ακολούθησε μια πτωτική τάση μέχρι τα 120 λεπτά σε παρόμοιες τιμές σε σχέση με την κατανάλωση του ίδιου γεύματος με ένα ισοθερμικό αναψυκτικό.^[89] Επίσης και μια άλλη μελέτη κατέληξε σε παρόμοια συμπεράσματα με την δική μας, ότι δηλαδή η γλυκόζη δεν παρουσίασε διαφοροποίηση μεταξύ παρεμβάσεων όπου καταναλώθηκε 4 ml/ kg λευκό ή κόκκινο κρασί με πρωινό σε σχέση με πρωινό και ισοθερμικό μη αλκοολούχο ποτό ίδιας ενεργειακής σύστασης στο σύνολο των 6 ωρών της

μελέτης.^[92] Επίσης σε άλλη μια μελέτη όπου εξετάστηκε η επίδραση λήψης γεύματος 1050 kcal (25% λίπος) ή του ίδιου γεύματος με ένα ποτήρι κρασί (200 ml) σε σχέση με την κατάσταση νηστείας, υπήρξε μια στατιστικά σημαντική αύξηση της γλυκόζης έως 120 λεπτά τόσο την παρέμβαση με το γεύμα αλλά και στην παρέμβαση με το γεύμα και το κρασί σε σχέση με την κατάσταση νηστείας, χωρίς όμως οι τιμές γλυκόζης αυτών των δυο παρεμβάσεων να έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.^[90]

Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στη μεταγευματική λιπαιμία.

Το υψηλό λιπαιμικό και υδατανθρακικό φορτίο του πρωινού που καταναλώθηκε οδήγησε σε αύξηση των τριγλυκεριδίων όπως ήταν αναμενόμενο. Αυτό που παρατηρήσαμε είναι ότι η παρέμβαση με την αιθανόλη παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση των τριγλυκεριδίων από την στιγμή που καταναλώθηκε μέχρι και τα 210 λεπτά σε σχέση με το νερό. Εξίσου και η παρέμβαση με το κόκκινο κρασί εμφάνισε μια στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση των τριγλυκεριδίων σε σχέση με το νερό στα 210, 300 και 360 λεπτά μετά τη λήψη του, ενώ για το λευκό κρασί στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στα 360 λεπτά.

Όλες οι μελέτες που εξετάσαμε είχαν το ίδιο αποτέλεσμα με την μελέτη μας, τόσο οι παρεμβάσεις στις οποίες καταναλώνονταν κρασί με γεύμα όσο και αυτές που καταναλώνονταν κάποιο άλλο αλκοολούχο ποτό είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε σχέση με την κατανάλωση κάποιου γεύματος μόνο.^[89, 92, 93] Ακόμη και στη μελέτη των Τουσούλη et al όπου σε ένα μεγάλο δείγμα ατόμων (83 υγιή νεαρά άτομα χωρίς παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρωση) έλαβαν τυχαία σε 5 παρεμβάσεις ίση ποσότητα αλκοόλ (30 γραμμάρια) με τη μορφή είτε ως κόκκινο κρασί (264 ml) είτε ως λευκό κρασί (264 ml) είτε ως μπύρα (633 ml) είτε ως ούισκι (79 ml) ή έλαβαν μόνο νερό (250 ml). Σε κάθε περίπτωση τα τριγλυκερίδια εμφάνισαν στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με το νερό. Δηλαδή το ίδιο αποτέλεσμα είδαμε όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων ανεξάρτητα από την κατανάλωση γεύματος.^[94]

Η οξεία και χρόνια κατανάλωση αλκοόλ έχει συσχετισθεί με μεταβολές στην χρήση καυσίμων στο σώμα, στη λιπόλυση, στις συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων και στο ηπατικό περιεχόμενο σε τριγλυκερίδια. Η κατανάλωση αλκοόλ μειώνει την οξειδωση των λιπών στο σώμα πιθανώς λόγω μείωσης των ελευθέρων μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων στη κυκλοφορία εξαιτίας μειωμένης λιπόλυσης παρουσία της αιθανόλης ή λόγω μεταβολής στην επιλογή του καυσίμου από τους ιστούς. Μελέτες έχουν δείξει ότι η οξεία κατανάλωση αλκοόλ μειώνει τη δράση της ηπατικής λιπάσης ενώ αντικρουόμενα είναι τα αποτελέσματα των μελετών

για την LPL. Από την άλλη πλευρά είναι πιθανό η αιθανόλη να αυξάνει την ηπατική de novo λιπογένεση. Μελέτες έχουν δείξει η αιθανόλη στο ήπαρ μετατρέπεται σε οξικό οξύ και στη συνέχεια σε ακετυλο-συνένζυμο Α το οποίο εισέρχεται στη de novo λιπογένεση στο ήπαρ. Η μεταβολική οδός αυτή αντιστοιχεί περίπου στο 5% της αιθανολής που έχει καταναλωθεί και δεν αποτελεί την κύρια μεταβολική τύχη της αιθανόλης. Αντίθετα το οξικό οξύ από το ήπαρ περνάει στην κυκλοφορία και επηρεάζει το μεταβολισμό των λιπών αφού έχει φανεί ότι αναστέλλει την λιπόλυση. Επίσης, το οξικό οξύ χρησιμοποιείται ως καύσιμο στους περιφερειακούς ιστούς και στο λιπώδη ιστό. Έτσι χρησιμοποιείται ως εναλλακτικό καύσιμο της λιπόλυσης των τριγλυκεριδίων με αποτέλεσμα τα τριγλυκερίδια να παραμένουν στην κυκλοφορία.^[98]

Βέβαια πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η μεταγευματική άνοδος των τριγλυκεριδίων στο αίμα διαρκεί περίπου 6-8 ώρες σε υγιή άτομα. Αν είχαμε την δυνατότητα να εξετάζαμε το φαινόμενο για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα θα μπορούσαμε να ξεκαθαρίσουμε αν παρόλο που η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων είναι αυξημένη, γίνεται αυξημένη κάθαρση αυτών λόγω των φαινολικών συστατικών του κρασιού. Δηλαδή ίσως η μεταγευματική αύξηση των τριγλυκεριδίων που παρατηρείται μετά την κατανάλωση του κρασιού να απαιτεί περισσότερη διερεύνηση, εφόσον είδαμε ότι η αιθανόλη από μόνη της αυξάνει τα τριγλυκερίδια μέχρι τις 4 ώρες κάτι που δεν φάνηκε για τους δύο τύπους κρασιού που περιέχουν και τις φαινολικές ενώσεις.^[78]

Δεν παρατηρήσαμε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές της ολικής χοληστερόλης, HDL και LDL-χοληστερόλης μεταξύ των τεσσάρων παρεμβάσεων ούτε και κάποια διαφοροποίηση των συγκεντρώσεων σε κάποια χρονική στιγμή. Εξάλλου οι λιποπρωτεΐνες αυτές δεν είναι ευαίσθητες σε οξείες μεταβολές της διαίτας που δεν περιέχει χοληστερόλη και επομένως δεν θα μπορούσαμε να δούμε κάποια σημαντική διαφορά στη διάρκεια των 6 ωρών της εξέτασή μας. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με την υπάρχουσα βιβλιογραφία.^[89-94] Βέβαια εστιάζοντας σε συγκεκριμένες κατηγορίες λιποπρωτεϊνών πλούσιες σε TG, η αύξηση των τριγλυκεριδίων μεταγευματικά μπορεί μακροχρόνια να οδηγήσει σε αύξηση της HDL λιποπρωτεΐνης.

Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Στο σύνολο των παρεμβάσεων παρατηρήσαμε μια τάση διαφοροποίησης ($p=0,07$) στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων όσον αφορά τις δύο παρεμβάσεις όπου καταναλώθηκαν οι δύο τύποι κρασιών σε σχέση με την αιθανόλη και το νερό, κάτι που μάλλον οφείλεται στο μικρό αριθμό των εθελοντών. Μάλιστα η ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, όπως

προκλήθηκε μέσω του PAF, μειώθηκε μεταξύ των 150 και 200 λεπτών μετά τις παρεμβάσεις που καταναλώθηκαν τα 2 κρασιά, κάτι που δε συνέβη με την κατανάλωση αιθανόλης ή νερού. Ειδικότερα η παρέμβαση με το λευκό κρασί παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά με το νερό ($p=0,03$), και επιπλέον στα 30 ($p=0,02$), 90 ($p=0,02$) και 210 ($p=0,03$) λεπτά μετά τη λήψη του. Επίσης η παρέμβαση με το κόκκινο κρασί τη χρονική στιγμή 150 λεπτά εμφάνισε μια τάση για διαφοροποίηση όσον αφορά την ικανότητα για συσσώρευση των αιμοπεταλίων σε σχέση με το νερό ($p=0,08$). Αξίζει να αναφερθεί ότι δεν υπάρχουν παρόμοια δεδομένα από τη βιβλιογραφία για να μπορέσουμε να συγκρίνουμε τα αποτελέσματα μας. Η μόνη μελέτη που υπάρχει όσον αφορά την μεταγευματική επίδραση του αλκοόλ στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων είναι των Numminen et al. Σε αυτήν 12 υγιείς άνδρες τυχαιοποιήθηκαν ως προς τις 4 φορές που εξετάστηκαν όπου τους δόθηκε α) κρασί (60 γρ αιθανόλη) με φαγητό, β) νερό (ίση ποσότητα με κρασί) με φαγητό, γ) κρασί (60 γρ αιθανόλη χωρίς φαγητό, δ) νερό (ίση ποσότητα με κρασί) χωρίς φαγητό. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων που προκαλείται με διατμητική τάση (SIPA) μειώθηκε μετά την κατανάλωση αλκοόλ, ανεξάρτητα από το αν τα άτομα ήταν σε κατάσταση νηστείας ή όχι, καθώς επίσης και μετά την πρόσληψη τροφής. Η κατανάλωση αλκοόλ ανέστειλε τη μεταγευματική αύξηση του παράγοντα von Willebrand. Τα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1 (PAI-1) πλάσματος και των τριγλυκερίδιων αυξήθηκαν με τη λήψη κρασιού.^[95]

Η επίδραση που είχε η κατανάλωση κρασιού στην ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων θα μπορούσε να αποδοθεί στην αιθανόλη που αυτό περιέχει, δεδομένου ότι είναι γνωστό από την βιβλιογραφία ότι η αιθανόλη προκαλεί αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Στην παρούσα όμως εργασία πραγματοποιήθηκε και παρέμβαση με υδατικό διάλυμα αιθανόλης αντίστοιχης περιεκτικότητας με τα δυο κρασιά, και δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στη ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Αν και δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η μεταγευματική λιπαιμία/τριγλυκεραιμία μπορεί να ενεργοποιήσει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Σύμφωνα όμως με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής είδαμε ότι τόσο η παρέμβαση με την αιθανόλη όσο και οι δύο παρεμβάσεις με το Ambelon και το Cabernet Sauvignon, οδήγησαν σε αύξηση των TG χωρίς να έχουν όμως τα ίδια αποτελέσματα στην ικανότητα των αιμοπεταλίων για συσσώρευση.^[98, 99]

Φαίνεται επομένως ότι τα μη αλκοολούχα συστατικά του κρασιού είναι αυτά τα οποία ευθύνονται για το παρατηρούμενο αποτέλεσμα. Όπως προ-αναφέρθηκε τα δύο κρασιά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη περιέχουν βιοδραστικά συστατικά που αναστέλλουν την προκαλούμενη από τον PAF συσσώρευση πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού. Είναι επομένως πιθανό να οφείλεται στην ύπαρξη αυτών των συστατικών η μειωμένη μεταγευματικά

ικανότητα των αιμοπεταλίων για συσσώρευση έναντι του PAF. Δεδομένου ότι ο PAF είναι ισχυρός φλεγμονώδης μεσολαβητής πιθανώς η ύπαρξη αναστολέων του μεταγευματικά στον οργανισμό να οδηγήσει σε εξασθένιση και άλλων φλεγμονωδών διαδικασιών.

1. Corti Roberto, Randolph Hutter, Juan Jose Badimon, Valentin Fuster. *Evolving Concepts in the Triad of Atherosclerosis, Inflammation and Thrombosis*. Journal of Thrombosis and Thrombolysis 2004;17:35–44,
2. WHO: *European Health for All Database.*, 2008
3. Elisaf M. *The treatment of coronary heart disease: An update. Part 1: An overview of the risk factors for cardiovascular disease*. Curr Med Res Opin. 2002;17:18-26
4. Harjai KJ. *Potential new cardiovascular risk factors: left ventricular hypertrophy, homocysteine, lipoprotein (a), triglycerides, oxidative stress, and fibrinogen*. Ann Intern Med. 1999;131:376-86
5. Hansson G. K. *Mechanisms of Disease. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease*. N Engl J Med. 2005;352:1685-95
6. Fragopoulou E., Demopoulos C. A., Antonopoulou S. *Lipid minor constituents in wines. A biochemical approach in the French paradox. Review*. International Journal of Wine Research. 2009;1:131–143
7. Zweifach, B. W., Grant, L. & McCluskey, R. T. *The Inflammatory Process*. Academic, New York, 1965
8. Carl Nathan. *Points of control in inflammation. Review*. Nature 2002;420:846-852
9. Vander, Sherman, Luciano, M. Τσακόπουλος, Ν. Γελαδάς. *Φυσιολογία του ανθρώπου ΙΙ*. 8^η Έκδοση: Αμυντικοί Μηχανισμοί του Ανθρώπου : Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης. 2001: 908-911
10. Μουτσόπουλος Χ. *Παθολογική φυσιολογία*. 2^η Έκδοση : Ανοσολογία: ιατρικές εκδόσεις Λίτσας. 2000:71-75
11. Demopoulos C. A., Karantonis H.C., Antonopoulou S.: *Platelet activating factor- a molecular link between atherosclerosis theories*. Eur. J. Lipid Science Technol. 2003;105:705-716
12. Δημόπουλος Κ., Αντωνοπούλου Σ. : *Βασική βιοχημεία 2^η Έκδοση με βελτιώσεις και Προσθήκες*. 2^η Έκδοση: Παράρτημα: Βασικοί Φυσιο-Παθολογικοί Μηχανισμοί Φλεγμονή-Αιμόσταση- Οξειδωτικό Στρες: Χαροκόπειο: 2009:49-63
13. Edgington T. R.: *Recognition coupled responses of the monocyte: activation of coagulation pathways*. Nouv Rev Fr Hematol. 1983;25:1-6
14. Berne M., Levy N. M. : *Physiology*. 4th Edition, Mosby, 1998

15. Gawaz M., Langer H., May A. E.: *Platelets in inflammation and atherogenesis. Review.* Journal of Clinical Investigation. 2005;115:3378-84
16. Lijnen H.R., Collen D.: *Congenital and acquired deficiencies of components of the fibrinolytic system and their relation to bleeding or thrombosis.* Fibrinolysis 1989;3:67-76
17. Καϊκη- Αστάρια Αναστασία: Σημειώσεις Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας: *Κεφάλαιο 1^ο: Διαταραχές Αιμόστασης και Πήξης.* Τμήμα Ιατρικής. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 2010
18. Keys A. Menotti A., Karvonen MJ., Aravanis A., Blackburn H., Buzina R., et al. *The diet and 15- year death rate in the Seven Study.* Am J. Epidemiol, 1986;124:903-915
19. Παναγιωτάκος Δ.Β. *Μεθοδολογία της έρευνας και της ανάλυσης δεδομένων για τις επιστήμες της υγείας.* Β.Γ. Κωστάκη, Αθήνα, 2006: 219-229
20. Trichopoulos D, Lagiou P. *Dietary patterns and mortality.* Br J Nutr.2001;85:133-4
21. Trichopoulou A, Vasilopoulou E: *Mediterranean diet and longevity* British Journal Nutrition 2000;84:205-209
22. Kok FJ, Kromhout D. *Atherosclerosis: epidemiological studies on the health effects of a Mediterranean diet.* Eur J Nutr. 2004;43:1:I/2-5.
23. Bach A., Serra-Majem L., Carrasco JL., Roman B., Ngo J., Bertomeu I. *The use of Indexes evaluating the adherence in the Mediterranean diet in epidemiological studies: A review.* Publ H Nutr. 2006;9 (1A)132-46
24. Matala A.L, Zambelas A, stavrinou V, Wolinski I.. *The Mediterranean diet: Constituents and Health Promotion. CRP Press LLC. Chapter 3: The Mediterranean diet: Definition, Epidemiological Aspects and Current Patterns.* 2001
25. Camargo CA Jr, Hennekens CH, Gaziano JM, Manson JE, Goldhaber SZ, and Hennekens CH. *Prospective study of moderate alcohol consumption and mortality in US male physicians.* Arch Intern Med 1997;157:79–85
26. Thun MJ, Peto R, Lopez AD, Monaco JH, Henley SJ, Heath CW Jr, and Doll R. *Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly US adults.* N Engl J Med 1997;337: 1705–1714
27. White IR, Altmann DR, and Nanchahal K. *Alcohol consumption and mortality: modelling risks for men and women at different ages.* BMJ 2002;325: 191–194
28. Da Luz P.L. and S.R. Coimbra. *Wine, alcohol and atherosclerosis: clinical evidences and mechanisms.* B. J. M. and Biological Research, 2004;37:1275-1295
29. Gordova A., Jackson L., Berke- schlessel D., Sumpio B. *The cardiovascular protective effect of red wine.* Am Coll Surg. 2005;200(3):428-439

30. De Lorgeril Renaud S, M. *Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease*. Lancet. 1992;339:1523–1526
31. Gronbaek M, Deis A, Sorensen TIA, Becker U, Schnohr P, and Jensen G. *Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits*. BMJ 310: 1165–1169, 1995.
32. Gronbaek M, Becker U, Johansen D, Gottschau A, Schnohr P, Hein HO, Jensen G, and Sorensen TI. *Type of alcohol consumed and mortality from all causes, coronary heart disease, and cancer*. Ann Intern Med 2000;133: 411–419
33. Di Castelnuovo A, Rotondo S, Iacoviello L, Donati MB, and de Gaetano G. *Meta-analysis of wine and beer consumption in relation to vascular risk*. Circulation 2002;105: 2836–2844
34. Djousse L, Ellison RC, Beiser A, Scaramucci A, D’Agostino RB, Wolf PA. *Alcohol consumption and risk of ischemic stroke : The Framingham Study*. Stroke 2002 ; 33 :90712. Erratum in Stroke 2002 ;33:1727
35. Albert C. Manson J. Cook N., Ajani U., Gaziano J., Hennekens C. *Moderate alcohol consumption and the risk of sudden cardiac death among US male physicians*. Circulation, 1999;10:944-950
36. Klatsby AL., et al: *Red wine, White wine, liquor, beer and risk for coronary artery disease hospitalization*. Am. J. Cardiol., 1997;80:416-420
37. Klatsby AL., et al: *Wine, liquor, beer and mortality*. Am J. Epidemiol. 2003;158:585-595
38. Truelsen T., Gronbaek M., Schnohr P., Boysen G. *Intake of beer, wine and spirits and risk of stroke. The Copenhagen City Heart study*. Stroke 1998;29:2467-2472
39. Locher R., Suter P.M., Vetter W. *Ethanol suppresses smooth muscle cell proliferation in the postprandial state: a new antiatherosclerotic mechanism of ethanol?* Am J. Clin Nutr. 1998;67:338-341
40. Burdge G., Calder G., *Plasma cytokine response during the postprandial period: a potential causal process in vascular disease?* Br J Nutr, 2005;93:3-9
41. Soleas George J., Eleftherios P. Diamandis, and David M. Goldberg: *Wine as a Biological Fluid: History, Production and Role in Disease Prevention*. Journal of Clin Nutr 1997. 11: 287-313
42. MCDonald M., Hughes M., Burnes J., Lean M. Crozier A., *Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins*. J Agric Food Chem 1998;46:368-375
43. E.Fragopoulou, T.Nomikos, S.Antonopoulou, C.A.Mitsopoulou and C.A.Demopoulos *Separation of biologically active lipids from red wine*. J.Agricultural Food Chemistry.2000;48:1234

44. Fragopoulou, T.Nomikos, N.Tsantila, A.Mitropoulou, I.Zabetakis and C.A.Demopoulos: *Biological activity of total lipids from red and white wine/must.* J. Agric. Food Chem. 2001;49:5186
45. E.Fragopoulou, S.Antonopoulou, and C.A.Demopoulos: *Biologically active lipids with antiatherogenic properties from white wine and must.* J.Agric.Food Chem. 2002;50:2684
46. E. Fragopoulou, S.Antonopoulou, T.Nomikos and C.A.Demopoulos: *Structure elucidation of phenolic compounds from red/white wine with antiatherogenic properties* Biochim. Biophys. Acta 2003;90:1632
47. Xanthopoulou, M.N., E. Fragopoulou, K. Kalathara, T. Nomikos, H.C. Karantonis and S. Antonopoulou. *Antioxidant and anti-inflammatory activity of red and white wine extracts.* Food Chem. 2009;120: 665-672
48. Salovainen MJ.Kesaniemi YA. *Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease.* Curr Opin Lipidol. 1995;6243-50
49. Foppa M., Fuchs F., Duncan B. *Alcohol and Atherosclerosis.* Arq Bras Cardiol. 2001;76:171-6
50. Szmitko P. A. and Subodh Verma. *Antiatherogenic potential of red wine: clinician update.* Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005;288: H2023–H2030
51. Rajaram S. *The effect of vegetarian diet, plant foods, and phytochemicals on hemostasis and thrombosis.* Am J Clin Nut.r 2003;78:552–8
52. Opie Lionel H. and Sandrine Lecour. *The red wine hypothesis: from concepts to protective signalling molecules. Review.* European Heart Journal. 2007;28:1683–1693
53. Francois M. BOOYSE, Wensheng PAN, Hernan E. Grenett, dale a. parks, Victor m. Darley-Usmar, Kelley m. Bradley, and Edlue m. Tabengwa, *Mechanism by which Alcohol and Wine Polyphenols Affect Coronary Heart Disease Risk.* Annals of Epidemiology. 2007;17;S24-S31
54. Shimada K, Watanabe H, Hosoda K, Takeuchi K, Yoshikawa J. *Effect of red wine on coronary flow-velocity reserve.* Lancet 1999;354:1002.
55. van Velden DP, Mansvelt EP, Fourie E, Rossouw M, Marais AD. *The cardioprotective effect of wine on human blood chemistry.* Ann NY Acad Sci 2002;957:337–340.
56. Rosenkranz S, Knirel D, Dietrich H, Flesch M, Erdmann E, Bohm M. *Inhibition of the PDGF receptor by red wine flavonoids provides a molecular explanation for the ‘French paradox’.* FASEB J 2002;16:1958–1960.

57. Fuhrman B, Volkova N, Suraski A, Aviram M. *White wine with red wine like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine.* J Agric Food Chem 2001;49:3164–3168.
58. Lamuela-Raventós R.M and De la Torre-Boronat. *Beneficial effects of white wines,* Drugs Exp. Clin. Res. 1999;25:121–124
59. Klatsky AL, Friedman GD, Armstrong MA, Kipp H. *Wine, liquor, beer, and mortality.* Am J Epidemiol 2003;158:585–595
60. Vogel RA: *Vintners and Vasodilators: Are French wines more cardioprotective?* J Am Coll Cardiol 2003;41:479-81
61. Wallerath T, Poleo D, Li H, Förstermann U. *Red wine increases the expression of human endothelial nitric oxide synthase.* J Am Coll Cardiol 2003;41:471-478
62. Fuhrman B., A Lavy and M Aviram. *Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation.* Am. J. Clin. Nutr, 1995;61:549-554
63. Pellegrini N, Pareti FI, Stabile F, Brusamolino A, Simonetti P. *Effects of moderate consumption of red wine on platelet aggregation and haemostatic variables in healthy volunteers* Eur J Clin Nutr.1996;50(4):209-13
64. Cuevas A. et al. *A High-Fat Diet Induces and Red Wine Counteracts Endothelial Dysfunction in Human Volunteers.* Lipids.2000;35:143-148
65. Retterstol Lars, Knut E, øivind Braaten, lars eikvar, Terje R. Pedersen and Leiv Sandvik A *daily glass of red wine: does it affect markers of inflammation?* Alcohol and Alcoholism 2005;46:102-105
66. Tsang C, Higgins S, Duthie GG, et al. *The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers.* Br J Nutr 2005;93:233–40.
67. Arendt BM, Ellinger S, Kekic K, et al. *Single and repeated moderate consumption of native or dealcoholized red wine show different effects on antioxidant parameters in blood and DNA strand breaks in peripheral leukocytes in healthy volunteers: a randomized controlled trial.* J Nutr 2005;4:33.
68. Sacanella E. et al. *Down-regulation of adhesion molecules and other inflammatory biomarkers after moderate wine consumption in healthy women: a randomized trial.* Am J Clin Nutr 2007;86:1463–9.

69. Micallef M, Lexis L, Lewandowski P. *Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans*. Nutr J (BioMed Central) 2007;6:27.
70. Imhof A., Blagieva R, Marx N, Koenig W. *Drinking modulates monocyte migration in healthy subjects: a randomised intervention study of water, ethanol, red wine and beer with or without alcohol*. J. Biol. Chem. 2009; 284:17808-17818
71. Helmut S, Wilhelm Stahl and Alex Sevanian. *Nutritional, Dietary and Postprandial Oxidative Stress*. Journal of Nutrition. 2005;135:969-972
72. Lebovitz HE. *Effect of the postprandial state on nontraditional risk factors*. Am J Cardiol 2001;88:20H-5H
73. ZilverSmith DB. *Atherogenesis: a postprandial phenomenon*. Circulation 1979;60:473-85
74. De Caterina R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. Curr Opin Lipidol 2000;119-23
75. Ceriello A. *The post-prandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus*. Diabetes Met Res. 2000;16:125-132
76. Heine RJ, Dekker JM. *Beyond postprandial hyperglycaemia: metabolic factors associated with cardiovascular disease*. Diabetologia. 2002;45(4):461-75 American
77. Ginsberg H., Illingworth D.G. *Postprandial dyslipidemia: an atherogenic disorder common in patients with diabetes mellitus*. Journal of Cardiology 2001;88:9-15
78. Karpe F. *Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis*. Journal of Internal Medicine 2001;246:341-355
79. Eberly Lynn E., Jeremiah Stamler, James D. Neaton. *Relation of Triglyceride Levels, Fasting and Nonfasting, to Fatal and Nonfatal Coronary Heart Disease*. Arch Intern Med. 2003;163:1077-1083
80. Frayn KN. *Non-esterified fatty acid metabolism and postprandial lipaemia* Atherosclerosis 1998;141:S41–S46
81. Ceriello A., D. Giugliano, A. Quatraro, P. Dello Russo and R. Torella. *Blood glucose may condition factor VII levels in diabetic and normal subjects*. Diabetologia 1988;31:889-891
82. Laakso M. *Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes*. Diabetes 1999;48:937-942
83. Dandona P, Ajada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. *Metabolic syndrome. A comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation*. Circulation 2005;111:1448–1454.

84. Esposito Katherine and Dario Giugliano. *Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases Review*. Eur Heart J; 2006;27:15-20.
85. Skeaff C. M. , B.J. Holub. *The effect of fish oil consumption on platelet aggregation responses in washed human platelet suspensions*. Thrombosis Research; 1998: 51: 105-115
86. Margioris NA. *Fatty acids and postprandial inflammation*. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 2009;12:129–137
87. Ceriello A. *The post-prandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus.Review*. Diabetes/Metabolism Research and Reviews 2000;16:125-132
88. Ceriello A., C. Taboga, L. Tonutti, R. Giacomello, L. Stel, E. Motz and M. Pirisi. *Post-meal coagulation activation in diabetes mellitus: the effect of acarbose*. Diabetologia 1996 ;39:469-473
89. Djoussé Luc , R. Curtis Ellison, Christine E. McLennan, L. Adrienne Cupples, Izabella Lipinska , Geoffrey H. Tofler, Noyan Gokce and Joseph A. *Acute effects of a high-fat meal with and without red wine on endothelial function in healthy subjects*. The American Journal of Cardiology 1999; 84:660-664
90. Napoli R., Vincenzo Guardasole, Valentina Angelini, Anna Maria Capasso, Emanuela Zarra, Antonio Cittadini, Margherita Matarazzo, and Luigi Sacca *Food and Red Wine Do Not Exert Acute Effects on Vascular Reactivity*. Metabolism 2004;53:1081-1086
91. HFJ Hendriks, J Veenstra, E J M Velthuis-Te Wierik, G Shaafsma, C Kluft: *Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors* BMJ 1994;308 : 1003-7
92. Michael J.A. Williams, Wayne H.F. Sutherland, Alan P. Whelan, Maree P. McCormick, and Sylvia A. de Jong *Acute Effect of Drinking Red and White Wines on Circulating Levels of Inflammation-Sensitive Molecules in Men With Coronary Artery Disease* Metabolism 2004;53:318-323
93. Blanco-Colio L.M., Monica Valderrama, Luis Antonio Alvarez-Sala, Carmen Bustos, Miguel Angel Hernaández-Presa, Pilar Cancelas. *Red Wine Intake Prevents Nuclear Factor-κB Activation in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Healthy Volunteers During Postprandial Lipemia Circulation*. 2000;102:1020-1026
94. Tousoulis D, Ioannis Ntarladimas , Charalambos Antoniadis, Carmen Vasiliadou, Costas Tentolouris, Nikos Papageorgiou, George Latsios, Christodoulos Stefanadis. *Acute effects of different alcoholic beverages on vascular endothelium, inflammatory markers and thrombosis fibrinolysis system*. Clinical Nutrition 2008;27:594-600

95. Numminen, M. Kobayashi, S. Uchiyama et al *Effects of alcohol and the evening meal on shear-induced platelet aggregation and urinary excretion of prostanoids*. Alcohol and Alcoholism 2000;35:594-600
96. Canali R., Raffaella Comitato, Roberto Ambra and Fabio Virgili *Red wine metabolites modulate NF- κ B, activator protein-1 and cAMP response element-binding proteins in human endothelial cells* British Journal of Nutrition 2010;103:807–814
97. Friedewald WT, Levy RJ, Fredrickson DS. *Estimation of the concentration of the low-density-lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge*. Clin Chem 1972;18:499–502
98. Siler Scott Q, Richard A Neese, and Marc K Hellerstein *De novo lipogenesis, lipid kinetics, and whole-body lipid balances in humans after acute alcohol consumption*1–3. Am J Clin Nutr 1999;70:928–36.
99. Mudrakova, R. Poledne, J. Kova. *Postprandial triglyceridemia after single dose of alcohol in healthy young men*. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases 2011;xx;1-6